



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO
BIOTRANSFORMACIONES EN LA SÍNTESIS
DE ANTITUMORALES**

Autor: Virginia Gregorio Díaz

Tutor: Andrés R. Alcántara

Convocatoria: Julio 2016

RESUMEN

El cáncer es un conjunto heterogéneo de enfermedades que puede afectar a todos los órganos del cuerpo y que consiste en la aparición de células cuyos mecanismos de Proliferación se encuentran descontrolados. Estas células poseen una capacidad de división y crecimiento que supera los límites normales y pueden llegar a invadir los tejidos vecinos o incluso a diseminarse por todo el organismo a través del torrente sanguíneo o linfático (metástasis)(1).

En la actualidad, el cáncer es la segunda causa de mortalidad en los países desarrollados, por detrás de las enfermedades cardiovasculares. La Incidencia del cáncer en España en 2012 era de 215.534 casos, siendo la predicción para 2015 de 227.076 casos, con un crecimiento de nuevos casos que se produce en mayor medida por el crecimiento de la población y su envejecimiento, así como el aumento de factores de riesgo asociados (tabaquismo o sedentarismo)(2).

Por otro lado, en la actualidad, existe un enorme deterioro del medio ambiente que ha generado la necesidad de buscar alternativas que conduzcan a la sostenibilidad ambiental. La Industria Farmacéutica se enfrenta en la actualidad, forzada por la normativa de la UE, a reducir la producción de residuos (200 Kg) por kilogramo de producto(3). Ello implica el desarrollo de procesos de síntesis más eficaces y selectivos, utilizando mejores recursos que impliquen la disminución del impacto ambiental de los procesos asociados.

Una de estas herramientas es la "química verde", concepto que contempla el diseño de productos y procesos que reducen la generación de sustancias peligrosas y maximicen la eficiencia en la utilización de recursos materiales y energéticos(4). El empleo de tecnologías menos contaminantes, permitirá a las empresas farmacéuticas mitigar los efectos ambientales asociados a su actividad, reduciendo el consumo de materiales e incrementando la participación de recursos renovables.

Este trabajo se centra en procesos de Biocatálisis y Biotransformaciones, implicados en la transformación de sustancias utilizando enzimas con sustratos no naturales, enfocado en su aplicación en Síntesis Orgánica, adquiriendo un papel importante en el diseño de las nuevas síntesis de fármacos antitumorales.

INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

Las industrias farmacéuticas y química fina han ido evolucionando a lo largo del tiempo. Las primeras drogas sintéticas eran moléculas relativamente simples pero en las décadas siguientes se hicieron cada vez más complejas, ejemplificado por la introducción de los antibióticos semisintéticos beta- lactámicos, las hormonas esteroideas en la década de 1940 y el fármaco anti-cáncer, taxol, en el 1990. El éxito de la industria farmacéutica moderna se debe en gran parte a los logros notables de la síntesis orgánica en el último siglo. Pero, muchas de estas reacciones consagradas por el tiempo y ampliamente aplicables se desarrollaron en un momento en el que las propiedades tóxicas de muchos reactivos y disolventes no eran conocidos y tanto la sostenibilidad como la minimización de residuos no resultaban problemas significativos.

Por ejemplo, a mediados de la década de 1980, se reportó la síntesis del intermedio, floroglucinol (1, 3, 5-triol benceno), que se produce principalmente a partir de 2, 4, 6-trinitrotolueno (TNT) Fig. 1. Además del producto deseado, el proceso genera 40 kg de residuos sólidos, que contiene $\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_3$, NH_4Cl , FeCl_2 y KHSO_4 , por cada kg de floroglucinol formados. El floroglucinol asciende a sólo el 5% de la masa total de los productos formados en la ecuación estequiométrica.(5)

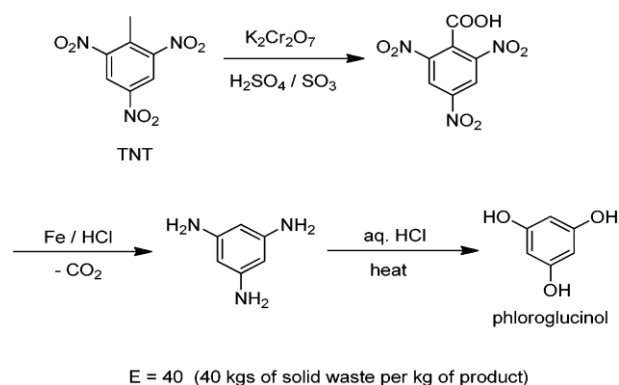


Figura 1. Síntesis del intermedio floroglucinol.

La magnitud de la generación de residuos en este proceso fue una revelación y supuso un posterior análisis de los residuos formados en los procesos para la fabricación de productos farmacéuticos. Este hecho sentó la base para el desarrollo del concepto de factor de E para evaluar el impacto ambiental de los procesos de fabricación de productos químicos. Se hizo evidente que era necesario un cambio de paradigma en la síntesis orgánica industrial a partir

de los conceptos tradicionales de reacción, eficiencia y selectividad enfocadas en gran medida al rendimiento químico, a una que asigna valor a la utilización de materias primas, eliminación de residuos y eludir el uso de tóxicos y / o sustancias peligrosas.

El término "química verde" fue acuñado en la década de 1990 por Anastas y Cols. US Environmental Protection Agency (EPA). Como consecuencia de la promulgación (Estados Unidos) del Acta de prevención de contaminación -primera ley ambiental del país centrada en la prevención de contaminantes y no en la eliminación de éstos- la American Chemical Society desarrolló el concepto de **química-verde** o **química-sostenible** para referirse al *diseño, desarrollo e implementación de productos y procesos que reducen o eliminan el uso y generación de sustancias peligrosas para la salud humana o medio ambiente.*

Este concepto se materializa en los 12 principios de la química verde:

1. La prevención de residuos en lugar de eliminarlos una vez formados.
2. Eficiencia atómica.
3. Diseño de sustancias degradables en productos inocuos, no persistentes en el medio.
5. Evitar sustancias auxiliares, o lo más inocuas posibles en caso de ser necesarias.
6. Energía eficiente por diseño (síntesis a temperatura y presión ambientales).
7. Materias primas renovables, siempre que sea técnica y económicamente viable.
8. Síntesis más cortas (evitar la formación de derivados).
9. Uso de reactivos catalíticos en lugar de estequiométricos.
10. Uso de productos eficaces y al mismo tiempo menos tóxicos.

Dentro de los procesos que suceden a la química verde se encuentran los procesos biotecnológicos que se emplean como alternativa a procesos químicos convencionales lo que conlleva ventajas económicas y medioambientales.

La OCDE, define la Biotecnología como: *“La aplicación de la ciencia y la tecnología a organismos vivos, así como también a partes, productos y modelos de los mismos, para alterar materiales vivos o no vivos para la producción de conocimientos, bienes y servicios”*

Como consecuencia, la Biotecnología va a tener un impacto global a tres niveles:

1.-**Naturaleza**, ya que al tratarse de una tecnología, puede aplicarse a una gran Cantidad de áreas o sectores como son la medicina, industria farmacéutica, agricultura, alimentación, medio ambiente, producción industrial o energía.

2.-**Alcance**, pues la población demanda a lo largo de su vida atención sanitaria de calidad, alimentos saludables y una adecuada gestión y conservación de los recursos naturales, así como del medio ambiente.

3.- **Economía**, ya que puede considerarse uno de los principales motores del Crecimiento económico mundial tanto en economías desarrolladas como en economías emergentes. La Biotecnología se clasifica siguiendo una escala de colores que es meramente orientativa en: roja, verde, blanca, gris y azul.

La Biotecnología Blanca, es un campo en auge de la Biotecnología moderna al servicio de la industria en general y de la Industria Farmacéutica en particular, relacionada con la utilización de sistemas biológicos como células enteras (hongos, levaduras, bacterias, así como enzimas) y puede utilizarse para producir productos de interés en la Industria Farmacéutica. Entre estos, podemos citar los biocatalizadores, que son eficaces y selectivos para producir antibióticos modificados, fármacos homóquiales, etc.

La transformación de una sustancia en otra, se lleva a cabo en la naturaleza mediante la utilización de enzimas para aumentar la velocidad del proceso. La utilización de enzimas con sustratos no naturales, es lo que denominamos **Biocatálisis** Fig 2. También, hay que indicar que las enzimas producen de un modo específico y selectivo únicamente uno de los isómeros posibles, que se obtendrá de forma enantiopura.

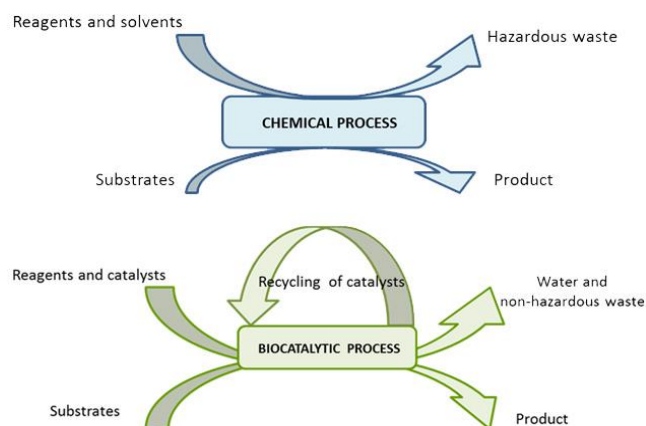


Figura 2. Proceso de biocatálisis.

La separación de estos enantiómeros, es de crucial importancia cuando se pretende utilizar estos compuestos como posibles fármacos, ya que las propiedades pueden ser muy diferentes, pudiéndose dar el caso que uno de los enantiómeros produzca un efecto beneficioso, mientras que el otro sea altamente perjudicial para el organismo. Para ilustrar esta idea, solo tenemos que retrotraernos al caso de la talidomida Fig 3. La diferente actividad farmacológica de los dos isómeros ópticos, hicieron que la Agencia Europea del Medicamento, así como la FDA americana, solo acepte desde el año 1992 el isómero que posee actividad farmacológica, imponiendo severas restricciones en el caso de mezclas racémicas.

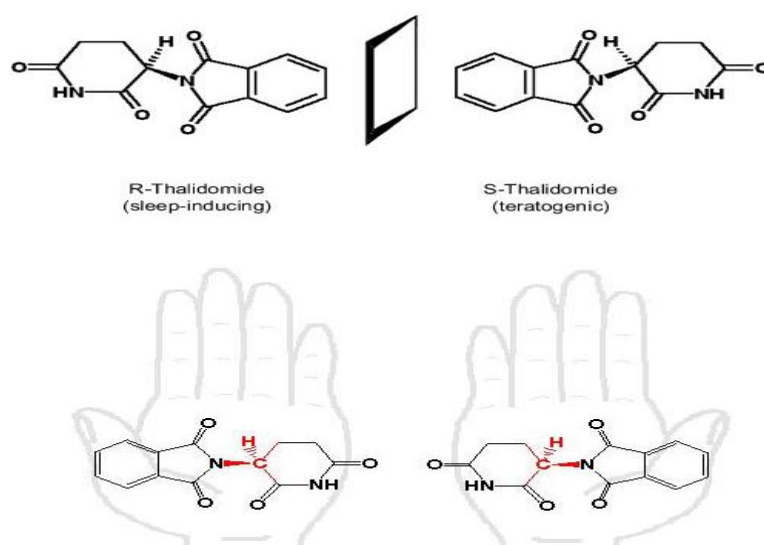


Figura 3. Enantiómeros de la talidomida.

Cabe indicar en este sentido, que de los diez medicamentos más vendidos en España, siete son compuestos ópticamente activos. En la obtención de estos fármacos se ha usado una biotransformación en algún paso(6).

La utilización de enzimas in vitro, ofrece una alternativa al proceso químico en unas condiciones más sostenibles y menos contaminantes. Las enzimas, consumen menos agua, menos productos de partida y menos energía que los mismos procesos catalizados por catalizadores convencionales. El impacto medioambiental es menor, obteniéndose productos más puros y a menor coste.

La naturaleza altamente específica de las enzimas, significa que los procesos biológicos no sólo requieren menores aportaciones de productos químicos, sino que también producen flujos de residuos menores y más manejables. Para ilustrar lo anteriormente dicho, podemos poner como ejemplo la obtención del ácido 6-aminopenicilánico, conocido como 6-APA y utilizado como intermedio en la síntesis de una gran variedad de antibióticos. La síntesis de 1Kg de 6-APA, mediante un proceso químico convencional, conlleva la utilización de 20,4 Kg de reactivos, mientras que ese mismo Kg de 6-APA puede obtenerse mediante procedimientos biotecnológicos, a partir de 0,09 Kg de amoníaco y 2 litros de agua.

Este auge de la Biotecnología, ha venido acompañado por el hecho de que las compañías farmacéuticas encuentran cada vez más difícil desarrollar y sacar al mercado nuevos productos. El número de fármacos aprobados cada año ha disminuido desde 1996, mientras que los gastos de I+D han aumentado enormemente.

OBJETIVOS

El objetivo de este trabajo es conocer en profundidad las reacciones biocatalíticas utilizadas en la obtención de intermedios antitumorales, reflejar las ventajas y desventajas de los procesos enzimáticos llevados a cabo, así como ofrecer una perspectiva general sobre la aplicación de la química verde en la industria farmacéutica, y en concreto en la síntesis de fármacos antitumorales.

La mayoría de los pacientes tratados con terapia anticancer reciben tratamiento pre- y post-operatorio. Podemos hacer una clasificación de los compuestos antitumorales en función a su estructura química en dos grupos: aquellos que provienen de modificar los compuestos naturales, como el Paclitaxel, y las “moléculas pequeñas”. En el periodo entre 1981 y 2010 se han aprobado 128 nuevos fármacos en el tratamiento contra el cáncer y el 77% de ellos pertenecen a este último grupo(7). En cualquier caso, la biocatálisis puede ayudar en la preparación de antitumorales, tanto si se trata de modificar compuestos naturales o la síntesis total de moléculas pequeñas.

La industria farmacéutica se centra en los últimos tiempos en estas moléculas, porque su síntesis es más sencilla que la síntesis de productos naturales. En este caso, la biocatálisis es útil, sobre todo para llegar a la quiralidad necesaria para conseguir compuestos activos

farmacológicamente, o compuestos que no sean dañinos para el organismo, como sucedió con el caso de la talidomida.

Una de las moléculas que se encuentra en Fase II-III de ensayos clínicos es el **Lonafarnib (SCH 63336/Sarasar)**, un inhibidor de la enzima farnesil transferasa (FTasa). La utilización de la biocatálisis aplicada para obtener productos intermedios de este fármaco será el tema de estudio en este trabajo, tanto su mecanismo de acción a nivel molecular como su síntesis y el estudio del enzima, siendo esta en concreto la lipasa de **Toyobo LIP-300** (lipoprotein lipasa de *Ps.aeruginosa*).

METODOLOGÍA

La información recopilada para la realización de este trabajo ha sido obtenida mediante una exhaustiva búsqueda bibliográfica. El soporte de la búsqueda se ha hecho mediante distintas bases de datos como son *Web of Science*, *PubMed* y *ACS Journals* (American chemical society) para la lectura de artículos científicos. La obtención de patentes, se ha realizado mediante *Google Patents Searches*.

Se ha utilizado la herramienta de investigación *SciFinder* que permite explorar diferentes bases de datos CAS (Chemical Abstracts) que contienen literatura de varias disciplinas, recopilando información relacionada con Química Farmacéutica, Biotecnología y biocatálisis aplicada.

Para la gestión de la bibliografía utilizada se ha usado el programa *EndNote*.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Un **biocatalizador** es una enzima (o grupo de ellas) que puede usarse en forma pura, parcialmente purificada o dentro de un sistema enzimático en una célula entera(8). Las enzimas son catalizadores que evolucionaron en la naturaleza con el fin de acelerar la gran cantidad de reacciones necesarias para mantener la vida Fig 4. Como todo catalizador, alteran la velocidad para llegar al equilibrio, pero no cambian la posición del mismo. La aceleración de la reacción se logra bajando la energía de activación del proceso global. El sustrato, en presencia de la enzima forma un complejo sustrato-enzima que luego evoluciona a producto y enzima con una energía de activación (ΔG^{*cat}) menor que la de la reacción no catalizada

(ΔG^*_{no-cat}). La magnitud del efecto catalítico está directamente relacionada a la diferencia de estas energías de activación.

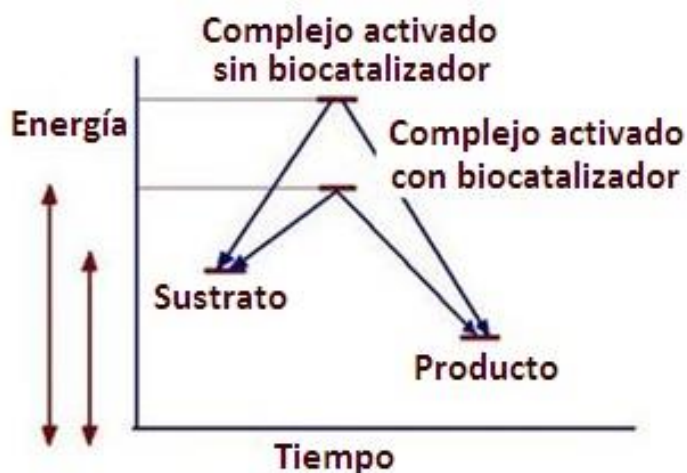


Figura 4. Diferentes Energías de activación con o sin el empleo de biocatalizador.

Ventajas y desventajas de los biocatalizadores

Las enzimas, como resultado de una larga evolución, muestran una gran eficiencia y selectividad. Las ventajas de su uso como catalizadores pueden resumirse de la manera siguiente:

- ✓ ***Son muy eficientes.*** Comparada con la reacción no catalizada, la aceleración producida es del orden de 10⁸ a 10¹⁰, mucho mayor que cualquier catalizador químico. Una de las enzimas más rápidas es la ureasa, que descompone la urea a CO₂ y amoníaco con un factor de aceleración de 10¹⁴.
- ✓ ***Actúan en condiciones suaves de pH y temperatura,*** con un rango de pH entre 5 y 8 y a temperaturas entre 20 y 40°C, con lo que se consigue minimizar las posibles reacciones secundarias.
- ✓ ***Son aceptables desde el punto de vista ambiental,*** al ser completamente degradables.
- ✓ ***Son útiles para catalizar un amplio espectro de reacciones:*** hay enzimas para casi cualquier tipo de reacción orgánica. Solamente para algunas ciclo adiciones no se han encontrado enzimas que las catalicen. Muchas enzimas muestran una amplia tolerancia de sustrato, aceptando compuestos de varios tipos.

- ✓ *Son altamente selectivas en mezclas complejas*, sin producir reacciones secundarias. Por ejemplo, con lipasas se puede realizar la hidrólisis de ésteres sin tocar a los acetales, que son más sensibles químicamente.
- ✓ *Muestran una alta quimio-, regio- y enantioselectividad* Fig 5. Esta es una de las características más deseables de las enzimas, ya que, al ser catalizadores quirales, pueden reconocer cualquier tipo de quiralidad presente en el sustrato una vez que se formó el complejo sustrato-enzima.

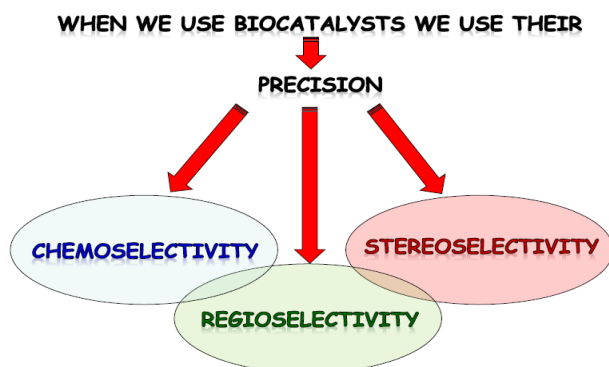


Figura 5 . Precisión de los procesos de biocatálisis.

Pero también presentan algunas desventajas:

- ✗ Tienen una **limitada estabilidad operacional**, pueden sufrir fenómenos de inhibición y solamente están disponibles en una forma enantiomérica.
- ✗ Otro factor a considerar es que desarrollan su máxima actividad en agua, aun cuando también actúa en otros disolventes.
- ✗ Por otra parte, debido a su alta selectividad, **se requieren muchos catalizadores** para cubrir la gran diversidad de reacciones orgánicas. Este es el problema de la disponibilidad de catalizador, y es una de las desventajas más importantes de los biocatalizadores.

Inhibidores de la farnesil transferasa

Las **proteínas Ras** pertenecen a la familia de las GTPasas, y participan en un gran número de vías de señalización celular. Fueron de las primeras proteínas identificadas como

reguladoras del crecimiento celular. En células sanas la actividad de estas proteínas está regulada por la proporción GTP/GDP.

Alrededor de un 25% de los tumores de páncreas, colon, tiroides y pulmón presentan una mutación del **gen Ras** que da lugar a proteínas que están permanentemente en estado activo (H-ras, K-ras, N-ras), provocando un aumento en la capacidad de invasión y metástasis y una disminución de la apoptosis. Por esta razón, es interesante para el desarrollo de nuevos fármacos antitumorales que inhiban la vía de señalización Ras.

Para que la **proteína Ras** actúe, debe de estar unida a la membrana celular Fig 6. Esto requiere la actuación de:

1. La **farnesiltransferasa**, que cataliza la reacción que introduce un resto de farnesilo sobre el grupo mercapto de un resto de Cys de la proteína. Reconoce el fragmento CAAX donde **C** es una cisteína, **A** es un aminoácido alifático (Leu, Ile, Val) y **X** es Met Ser Leu o Gln.
2. **Peptidasas**, para liberar los tres aminoácidos del extremo C-terminal
3. **Metiltransferasa**, para la esterificación del “nuevo” extremo C-terminal.
4. **Palmitoil-Coa transferasa**, que cataliza la reacción que introduce restos de palmitoililo sobre el grupo mercapto de dos restos de Cys Fig 7.

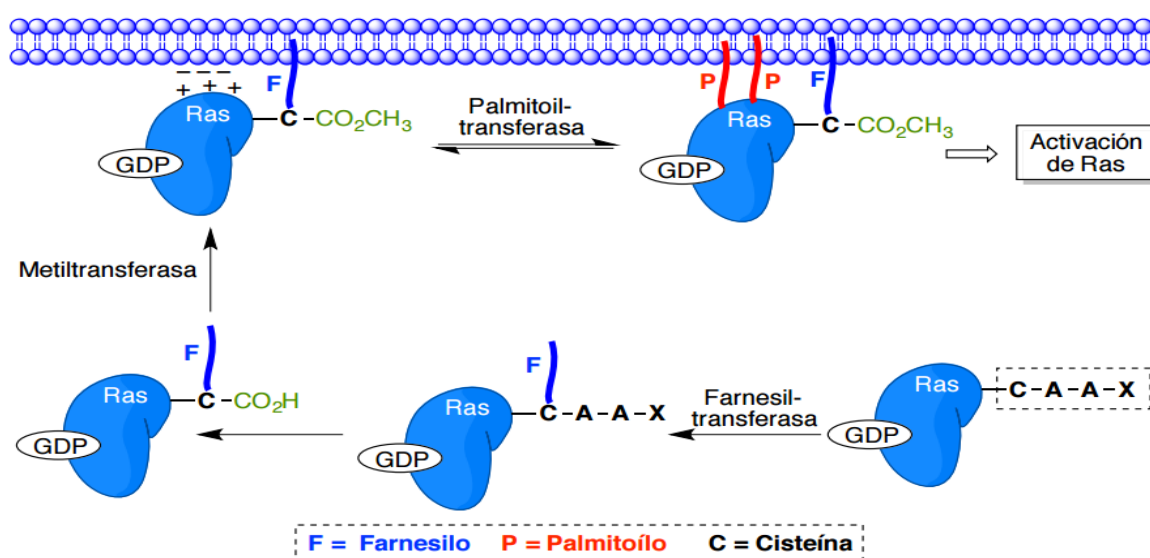


Figura 6. Activación de proteínas Ras.

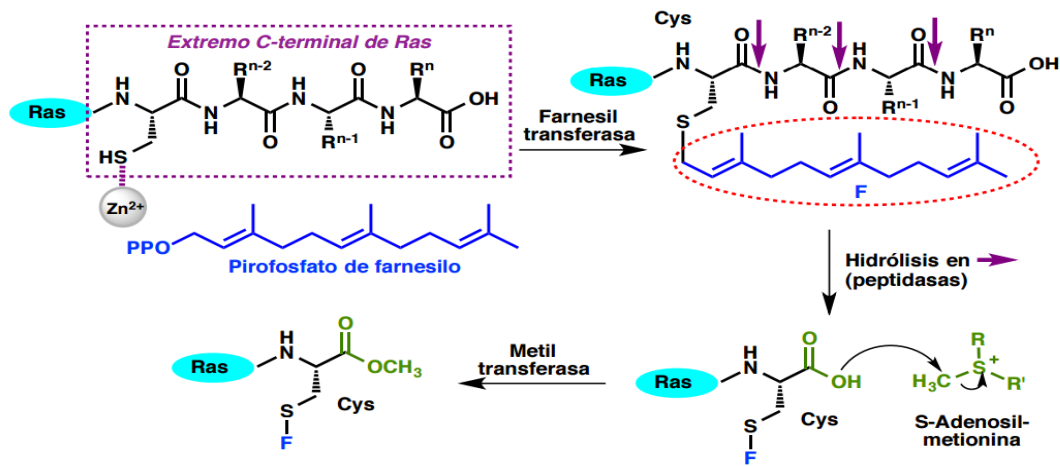


Figura 7. Farnesilación, hidrólisis del extremo C-terminal y esterificación de la cisteína.

La farnesilación es un paso limitante para la activación de la proteína Ras y, por tanto, una interesante diana para el desarrollo de fármacos antitumorales, en este caso el Lonafarnib Fig 8.

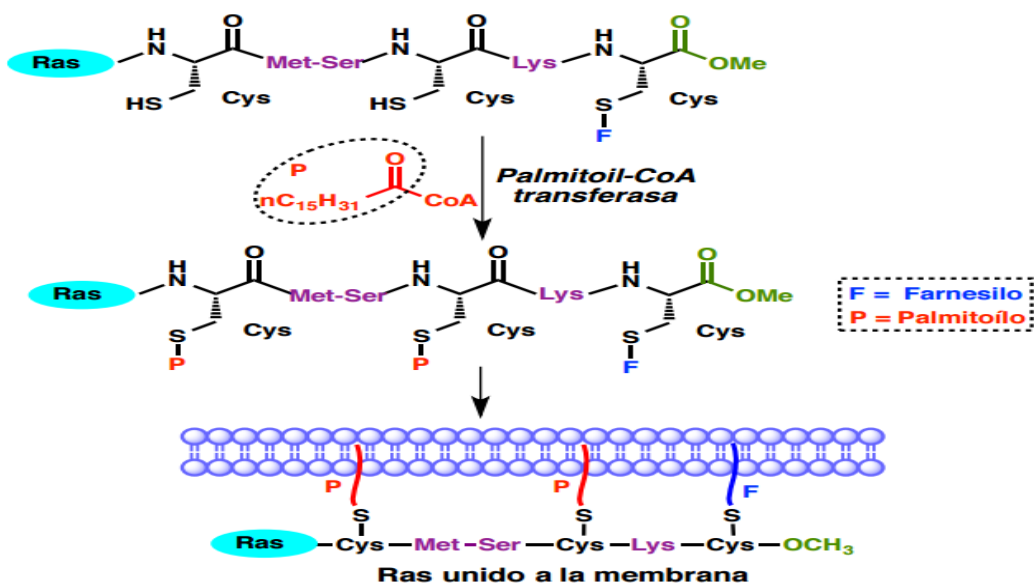
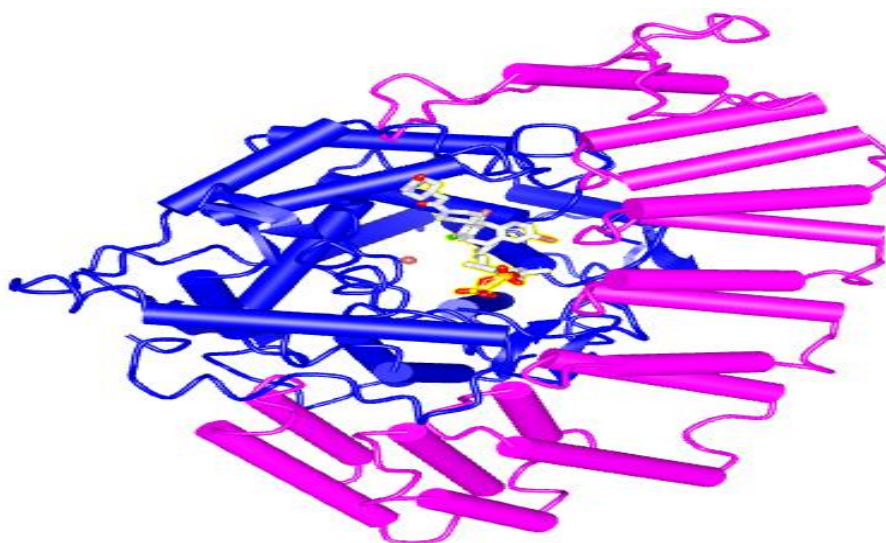


Figura 8. Palmitoilación y unión a la membrana.

Inicialmente, estos compuestos se desarrollaron como drogas específicas anti-Ras; sin embargo, investigaciones posteriores demostraron que los FTIs actúan por mecanismos más complejos que se extienden más allá de las proteínas Ras e involucran a otras dianas moleculares, como: las proteínas de la familia Rho, proteínas de unión a centrómetro y, probablemente, otras proteínas farnesiladas.

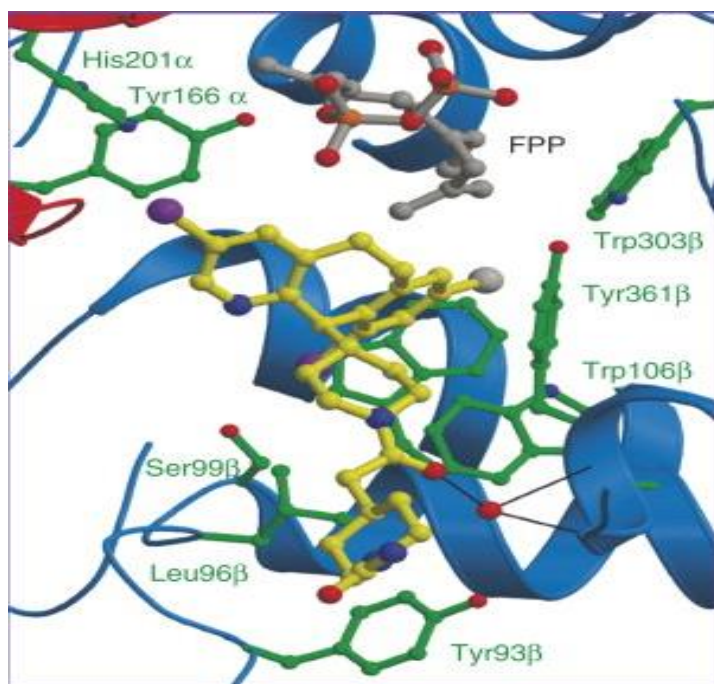
Los FTIs tienen la capacidad de bloquear la farnesilación de las proteínas H-Ras, pero no de K-Ras y N-Ras, que son las formas más frecuentemente mutadas en el cáncer humano. Estas últimas pueden escapar a la inhibición de los FTIs al experimentar una farnesilación alternativa mediante la enzima GGTasa I, lo que mantiene su capacidad transformante. Este hecho ha determinado el diseño y evaluación de fármacos inhibidores de la GGTasa I (GGTIs), como alternativa a la farnesilación de K-Ras y N-Ras. Al mismo tiempo, estos inhibidores pueden ser útiles contra blancos moleculares de la familia Rho de proteínas (Rac, Rho y Cdc42), que está implicada en la transformación maligna inducida por Ras, la invasión tumoral y la metástasis(9).

Lonafarnib (SCH 63366/Sarasar) es un derivado sintético tricíclico de carboxamida, inhibidor selectivo de la farnesiltransferasa Fig 9. Es un compuesto peptidomimético de estructura no peptídica, sin grupo sulfhidrilo, activo por vía oral dirigido al fragmento CAAX de la proteína Ras. A pesar de un que los ensayos clínicos (faseIII) indican una actividad limitada frente a tumores sólidos, se ha mostrado recientemente gran interés en la combinación con otras terapias, en cáncer de pulmón y neoplasias hematológicas (imatinib ó bortezomib).



-Figura 9. Estructura tridimensional Farnesil Transferasa- Lonafarnib.

La farnesiltransferasa, es una **metaloproteína** (heterodimérica) que contiene Zn^{2+} en su centro activo y está formada por dos subunidades (α , β) que se unen a la caja CAAX de la proteína Fig 10. **Lonafarnib establece su unión sobre las dos subunidades de la metaloproteína, sin un ligando para la unión con el cofactor Zn^{2+} (10).**



- Figura 10. Interacción Lonafarnib, FPP y Farnesil transferasa.

La síntesis química para la obtención del compuesto fue la siguiente:

La introducción de un átomo de bromo en posición 10 de la benzocicloheptapiridina (I) se logró mediante la siguiente secuencia:

La nitración del compuesto (I) usando $NaNO_3-H_2SO_4$ proporcionó una mezcla de compuestos nitro (II) y (III), de la que el principal 9-nitro isómero (III) se separó por cromatografía en gel de sílice. La reducción del grupo nitro de (III) con limaduras de hierro y $CaCl_2$ en etanol y agua a reflujo, que dio el derivado amina (IV), que fue bromado en la posición 10 con Br_2 en $AcOH$. A continuación la anilina bromada (V) fue desaminada por diazotación, seguido de reducción de la sal de diazonio resultante con ácido hipofosforoso (H_3PO_2) para dar compuesto tri-halogenado (VI). La hidrólisis del grupo carbamato de (VI) se produjo en ebullición con HCL concentrado proporcionando piperidina (VII). La posterior reducción de la C-12 de doble enlace de (VII) se llevó acabo utilizando $DIBAL-H$ en tolueno a reflujo para dar la piperidina racémica correspondiente Fig 11.

La separación de enantiómeros se consiguió mediante HPLC en una columna Chiralpak AD o por resolución química usando *N-acetil-Fenilalanina* como agente de resolución. El apropiado R -(+) enantiómero (VII) se acopló con ácido N-Boc-piperidilacético (IX) en presencia de EDC y ETOH para proporcionar la amida protegida (X). La hidrólisis del grupo

protector Boc se llevó a cabo con ácido trifluoroacético, y la piperidina resultante (XI) se trata finalmente con isocianato de trimetilsililo para dar la carboxamida deseada(11).

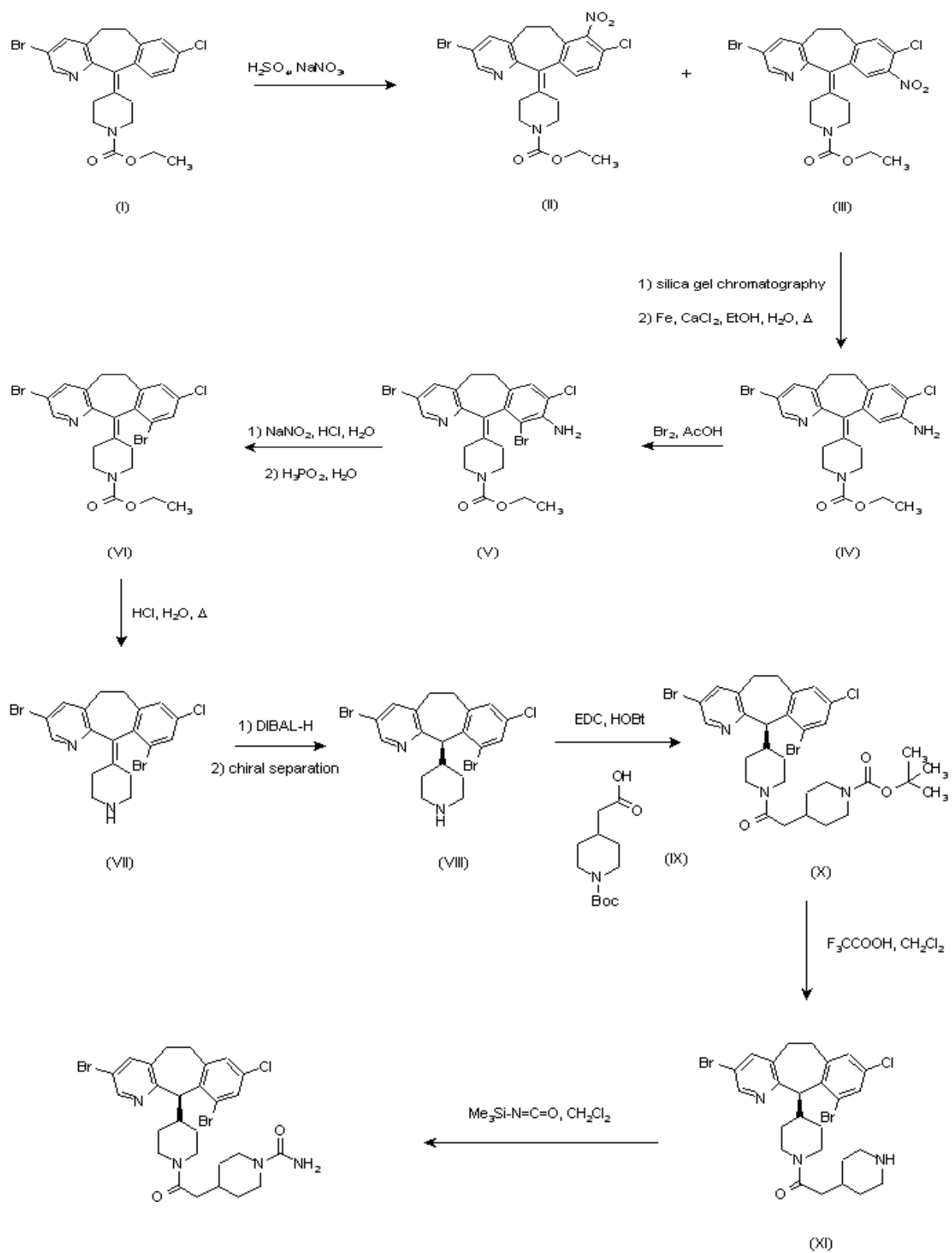


Figura 11. Síntesis química Lonafarnib.

Como una alternativa potencial a la presente resolución, también se estudiaron las **resoluciones enzimáticas** de diferentes productos intermedios.

En primer lugar se propusieron a través de la desacilación de carbamato de rac-(VI) por hidrólisis enzimática microbiana, pero se obtuvieron resultados muy pobres. Sin embargo, la resolución cinética del compuesto intermedio racémico rac-(VII) a través de acilación enzimática dio excelente conversión y exceso enantiomérico. Aunque este proceso enzimático no se lleva a cabo en agua, es importante mencionar la selectividad mostrada por el biocatalizador.

El sustrato racémico **no contiene un centro quiral**, pero existe como un par de enantiómeros debido al *atropisomerismo* alrededor del doble enlace exocíclico. Este tipo de isomería se da por la existencia de una barrera energética que impide la rotación de la molécula, dando lugar planos disimétricos perpendiculares(12) Fig 12.

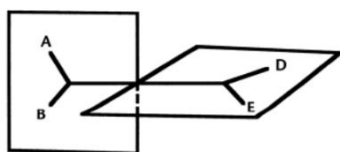


Figura 12. Atropisomerismo que da lugar a planos disimétricos perpendiculares

Así, después de un examen exhaustivo de las condiciones de reacción (223 enzimas disponibles comercialmente probados, 12 disolventes orgánicos y una amplia variedad de ésteres y carbonatos como agentes acilantes probados) y optimizando las condiciones de reacción en términos de agente acilante, disolvente y contenido en humedad, los mejores resultados se obtuvieron con **Toyobo LIP-300** (una lipasa de *Pseudomonas aeruginosa*), empleando terc-butil éter de metilo (TBME) como disolvente y 2,2,2-trifluoroetil isobutirato como donador de acilo(7). Después de 24 horas se produjo el 42% de conversión y se alcanzaron **excelentes valores de ee** (97% para (+)-XIV, 96% para (-)-XII) con un $E > 200$.(13)

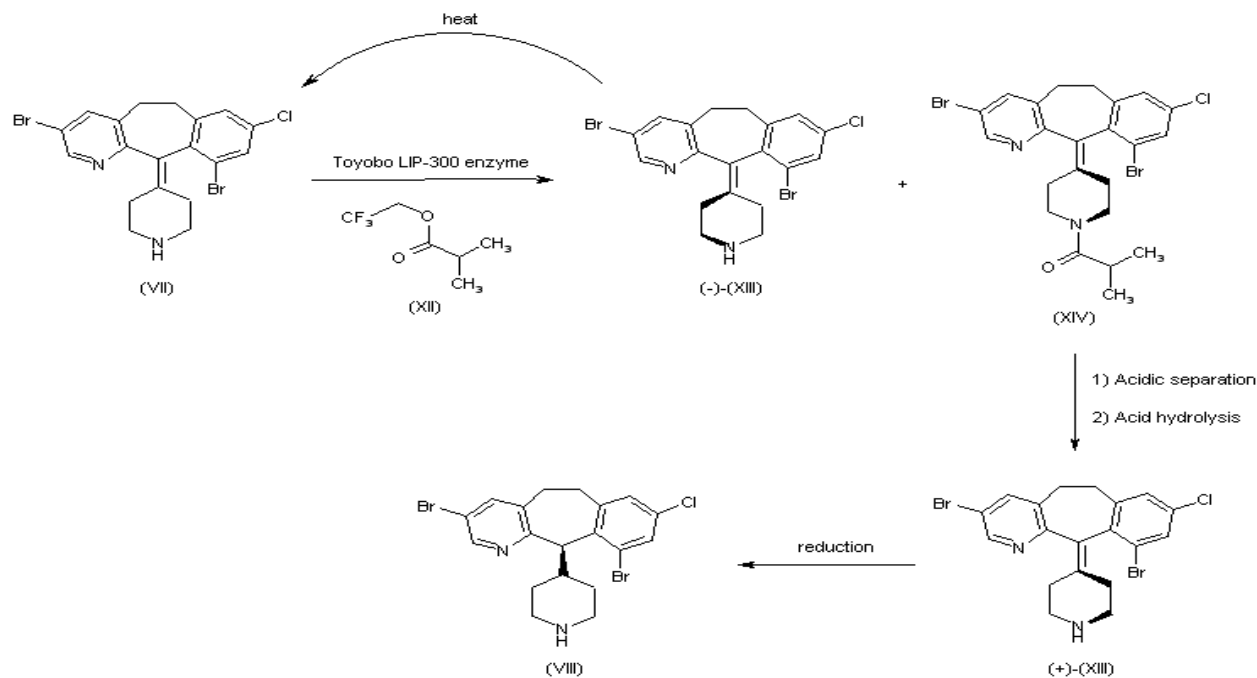


Figura 13. Síntesis enzimática del intermedio (XIV).

Las **lipasas** son enzimas pertenecientes al grupo de hidrolasas, que debido a su estabilidad en medios orgánicos, su elevada regio-, quimio- y enantioselectividad y el amplio espectro de sustratos son de elección en muchos procesos de resolución racémica como en el compuesto (VII)(14). En este caso se produce una *aminólisis del éster* utilizado como donador de acilo. El mecanismo de acción general de las lipasas en este tipo de reacción es el siguiente(15) Fig 14:

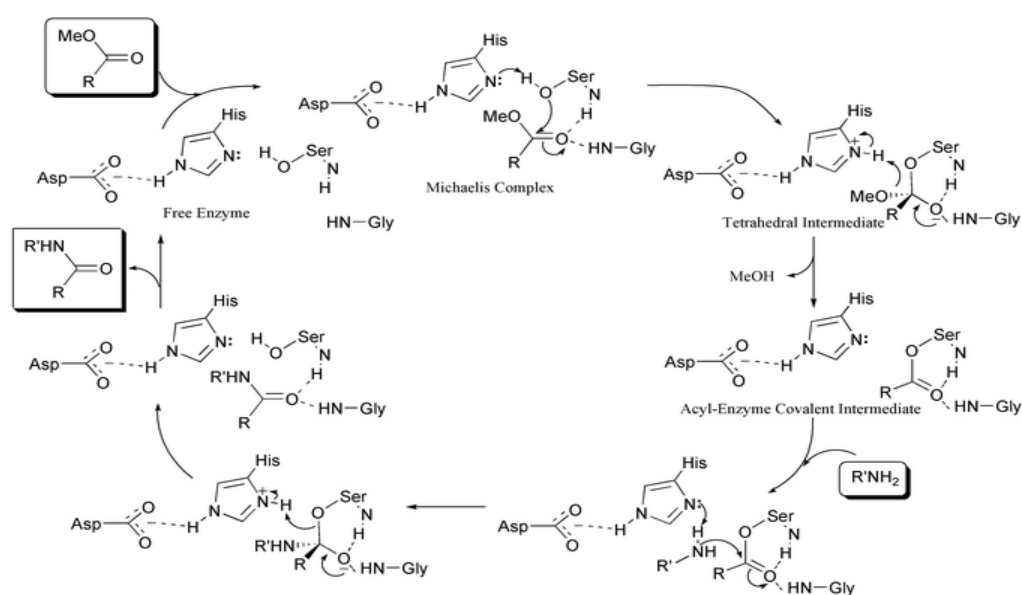


Figura 14. Mecanismo de la lipasa en la reacción de aminólisis.

Debido a la alta carga enzimática (relación 2: 1 w / w de enzima / sustrato) necesaria para lograr la conversión de 50% con una excelente selectividad, se eligieron **agentes de acilación voluminosos**, debido a que la enantiodiscriminación mostrada por la lipasa fue considerablemente menor en los tiempos de reacción más cortos (entradas 2 y 3) . Esto explica la importancia en la elección de ésteres activados como donadores de acilo, para que la reacción llevada a cabo por la lipasa se desplace mayoritariamente hacia la síntesis de la amida, y no aparezcan productos intermedios no deseados debido a reacciones secundarias.

Por último, se consiguió el **reciclado y la reutilización del catalizador hasta 15 ciclos**, con el fin de superar la limitación del uso de una gran cantidad de biocatalizador en la reacción enzimática.(16)

entry	R	t (h)	ee _p (%)	ee _s (%)	c (%)	E
1	ⁱ Pr	26	97	96	50	>200
2	Me	2.75	89	81	48	44
3	ⁿ Pr	5	96	71	43	95

Además, el producto isobutiramida (+)-(XIV) permite su fácil separación del material de partida sin reaccionar por una simple extracción con ácido y el no deseado (-)-(XIII) podría ser recuperado, racemizado térmicamente por calentamiento a reflujo en di (etilenglicol) dibutil éter y sometida de nuevo a acilación enzimática. Un rendimiento global del 65% se obtuvo con 98% ee después de tres procesos de resolución enzimática, que se completó en una escala de 50 kg.

En un procedimiento similar, la resolución cinética de (VIII) también se exploró, describiendo una acilación muy selectiva catalizada lipasa Toyobo LIP - 300. Sin embargo, como el enantiómero no deseado no se pudo recuperar y racemizar, este proceso no fue integrado en la síntesis final de Lonafarnib.

CONCLUSIONES

- ❖ La **biocatálisis** se presenta como una *alternativa en auge para la obtención de intermedios y/o sustancias antitumorales frente a los procesos de síntesis química*, debido a la gran especificidad de los biocatalizadores no es necesario la utilización de grupos protectores, permitiendo reducir la producción de residuos generados así como el número de reacciones necesarias. Esto supone un aumento en el rendimiento del proceso y como consecuencia una disminución en los costes asociados a la eliminación de disolventes y utilización de una gran cantidad de reactivos.

- ❖ Las **lipasas** son enzimas pertenecientes al grupo de hidrolasas, que debido a su estabilidad en medios orgánicos, su elevada regio-, quimio- y enantioselectividad y el amplio espectro de sustratos que pueden transformar son en muchas ocasiones *el biocatalizador de elección en la preparación de intermedios quirales*, para la obtención de moléculas farmacológicamente activas.

- ❖ La obtención de intermedios ópticamente activos del fármaco Lonafarnib por *procesos biocatalíticos demuestra la gran precisión del biocatalizador*, ya que presenta una quiralidad especial, debido al atropoisomerismo del doble enlace exocíclico. Sin la utilización de cofactores para la resolución racémica del compuesto, se obtienen unos valores de ee excelentes.

BIBLIOGRAFÍA

1. OMS | Cáncer. WHO. 2015;
2. Sociedad Española de Oncología Médica. Las Cifras del Cáncer en España 2014. Soc Española Oncol Médica. 2014;1–20.
3. Sinisterra JV, Sánchez montero JM. Biocatálisis aplicada a la Química Farmacéutica. 2007;73(4):1199–236.
4. Pajaro NP, Tadeo J. Green chemistry: a new challenge. 2011;21(2):169–82.
5. Sheldon R a. Fundamentals of green chemistry: efficiency in reaction design. Chem

- Soc Rev. 2012;41(4):1437.
- Sánchez Montero JM. Biotecnología: presente y futuro. *Biotecnología*. 2011;52-9.
 - Hoyos P, Pace V, Alcantara A. Biocatalyzed On Water Synthesis of Chiral Building Blocks for the Preparation of Anti-Cancer Drugs: a Greener Approach. *Curr Org Chem*. 2013 Jun 1;17(11):1132-57.
 - Seoane G, Gonzalez D, Schapiro V. Biotransformaciones: una alternativa sustentable en síntesis orgánica. *Quim Verde en Lat América*. 2004;(April 2016):30-51.
 - Clara S, Clara V, La BDE, Ras SDE, Terapias YN. Bloqueo de la señal de ras y nuevas terapias antineoplásicas. 2007;11(1):5-7.
 - Strickland CL, Weber PC, Windsor WT, Wu Z, Le H V., Albanese MM, et al. Tricyclic farnesyl protein transferase inhibitors: Crystallographic and calorimetric studies of structure-activity relationships. *J Med Chem*. 1999;42(12):2125-35.
 - Njoroge, F.G.; Vibulbhan, B.; Girijavallabhan V. Process for producing (8-chloro-3,10-dibromo-6,11-dihydro-5H-benzo[5,6]cyclohepta[1,2-b]pyridin-11-yl)-1-piperidine.
 - García Ruiz PA. ESTEREOQUIMICA. 1991. 61 p.
 - Morgan B, Zaks A, Dodds DR, Liu J, Jain R, Megati S, et al. Enzymatic Kinetic Resolution of Piperidine Atropisomers: Synthesis of a Key Intermediate of the Farnesyl Protein Transferase Inhibitor, SCH66336. *J Org Chem*. 2000 Sep 1;65(18):5451-9.
 - Hernáiz MJ. Biocatálisis Aplicada a La Síntesis De Fármacos (I) Enzimas Hidrolíticas. *Monogr la Real Acad Nac Farm [Internet]*. 2012;(I):194-237. Available from: <http://www.analesranf.com/index.php/mono/article/view/1318/1376>
 - Alfonso I, Gotor V, Yang W, Drucekhammer DG, Ilera S, Galabov B, et al. Biocatalytic and biomimetic aminolysis reactions: useful tools for selective transformations on polyfunctional substrates. *Chem Soc Rev*. 2004;33(4):201.
 - Busto E, Gotor-Fernández V, Gotor V. Hydrolases in the Stereoselective Synthesis of N -Heterocyclic Amines and Amino Acid Derivatives. *Chem Rev*. 2011;111(7):3998-4035.

