



## ENZIMAS EN LA INDUSTRIA FARMACÉUTICA: SU USO EN LA SÍNTESIS MICROBIOLÓGICA Y QUIMIOENZIMÁTICA DE FÁRMACOS Y EN TERAPÉUTICA MÉDICA: UNA REVISIÓN.

**Enzymes in the pharmaceutical industry: its use in microbiological and chemoenzymatic synthesis of medicaments and medical therapeutic: a review.**

Oscar Valbuena

Departamento de Biología, Facultad de Ciencias y Tecnología, Universidad de Carabobo.

Valencia, Venezuela

### Introducción

Durante el siglo XX, el desarrollo de la bioquímica, microbiología, biología molecular y la biotecnología, posibilitaron la caracterización, métodos de aislamiento, preservación y el uso de enzimas en procesos industriales factibles de utilidad para la sociedad (Inram & Bokharia, 2016). Posteriores avances condujeron a la inmovilización de enzimas (Arroyo, 1998), lo cual permitió el reciclaje de ellas en procesos productivos y un ahorro económico apreciable. Finalmente, los avances en electrónica, ingeniería y química dieron origen a la fabricación de biosensores (González-Rumayor *et al.*, 2005; Serna-Cock *et al.*, 2009), dispositivos capaces de determinar cualitativa y cuantitativamente moléculas y metales importantes para las industrias farmacéuticas y de alimentos (Moral *et al.*, 2015, Torres-Ramírez & Méndez-Albores 2014, Serna-Cock *et al.*, 2009), agropecuarias (González-Rumayor *et al.*, 2005), de diagnóstico clínico (Hamalatha *et al.*, 2013, Torres-Ramírez & Mendéz-

Albores 2014) y de monitoreo ambiental (Torres-Ramírez & Méndez-Albores 2014, Serna-Cock *et al.*, 2009). Actualmente son muchos los procesos biotecnológicos que utilizan células o enzimas aisladas de diferentes orígenes, microbianas (bacterias, hongos), vegetales y animales. Las mayores contribuciones de organismos en la producción de enzimas están relacionadas a hongos con 60%, seguido de bacterias (24%), levaduras (4%), Streptomices (2%), animales superiores (6%) y plantas superiores (4%), (Khan, 2018). La utilización de enzimas es importante en una amplia variedad de actividades industriales, enmarcando la fabricación de fármacos, herbicidas, insecticidas, detergentes, biocombustibles, alimentos, bebidas, papel, telas (Raveendra *et al.*, 2018). Además, su uso es relevante tanto en la diagnosis como en la terapéutica de enfermedades y en el monitoreo y remediación de ambientes naturales. A nivel mundial la producción masiva de enzimas purificadas ésta limitada

a unas 36 empresas (Arroyo *et al.*, 2014), mayoritariamente europeas; siendo los principales productores Dinamarca (38%), Japón (23%), Alemania (13,6%), Países Bajos (12%), Suiza (9,5%), Estados Unidos, Canadá y México (3,8%) (Moral *et al.* 2015); abarcando Dinamarca y Estados Unidos el 75% de las ventas globales (Moral *et al.*, 2015). El 40% de las ventas corresponden a enzimas relacionadas a alimentos y bebidas, el 30% a detergentes, 12% a textiles y papel y 10% a productos químicos, biológicos y medicamentos (Castillo-Rosales & Rodríguez-Alegría, 2014). El uso de enzimas en la industria farmacéutica implica la adopción de principalmente dos estrategias dependiendo del destino que se le asigne a la preparación enzimática; si la enzima va a ser utilizada como un catalizador para sintetizar un fármaco o para formar parte de un biosensor, la molécula debería ser inmovilizada de tal manera de ser utilizada en varios lotes de producción, lo cual ahorrara costos de producción. Si la enzima constituye el fármaco entonces ella debe de suministrarse en forma líquida (solución, suspensión) o sólida (polvo, granulada), lo cual implica su producción continua en relativamente grandes unidades de fabricación requiriendo usualmente reactores de 100.000 a 500.000 litros de capacidad (Madigan *et al.*, 2004).

En este manuscrito se considerarán las estrategias básicas empleadas para el uso de enzimas/microorganismos en la síntesis de fármacos y su utilidad como agentes terapéuticos.

No se pretende una revisión exhaustiva de estas áreas, el objetivo es enfatizar sobre pasos críticos catalizados por enzimas en la producción de reconocidos medicamentos.

### **Enzimas en la fabricación de fármacos**

La elaboración de fármacos enzimáticos a nivel industrial usualmente se efectúa mediante la síntesis quimioenzimática o por biotransformaciones microbiológicas. En el caso de las biotransformaciones microbiológicas, las enzimas implicadas en el proceso pueden ser de origen endógeno del microorganismo o mediante la incorporación de la información genética proveniente de otros organismos, incluido el humano, que codifica la enzima a utilizar en la síntesis del fármaco. Los microorganismos (bacterias y hongos) son capaces, mediante la expresión de actividades enzimáticas endógenas, de transformar moléculas naturales exógenas y producir compuestos de importantes actividades fisiológicas y farmacéuticas (Bhatti & Khera, 2012).

La síntesis quimioenzimática se define como la utilización de enzimas como agentes catalíticos para obtener un producto y en la industria farmacéutica se emplea en uno o varios pasos implicados en la síntesis de fármacos (Espinosa-Kominami, 2015). Este concepto implica el uso de dos estrategias: I-utilización de moléculas producidas por síntesis química orgánica o por moléculas naturales sintetizadas por microorganismos (Donova & Egorova, 2012), las cuales posteriormente son utilizadas como sustratos para adicionar o eliminar grupos químicos mediante la intervención de una enzima y II-la resolución de mezclas racémicas mediante enzimas (Patel, 2000). La ventaja del uso de enzimas en algunos pasos de la síntesis de un compuesto radica en su estereoselectividad (químico, regio y enantioselectividad) y el proceso puede realizarse a temperatura ambiente y presión atmosférica;

adicionalmente: A: se minimizan reacciones de isomerización, racemización, epimerización y rearrreglos que usualmente ocurren en la síntesis orgánica y que serían no deseables para la producción de fármacos (Patel, 2000), B: la posibilidad de efectuar cambios químicos sin necesidad de grupos protectores como ocurre en la síntesis orgánica convencional; C: disminución de pasos químicos para obtener el producto final; D: más altos rendimientos; E: reducción en la generación de productos secundarios o posibles contaminantes (Espinosa-Kominami, 2015) y F: ahorro en costos y tiempos de producción (Donova & Egorova, 2012). Entre las enzimas más utilizadas están aquellas que intervienen en reacciones químicas donde están implicados centros quirales (carbonos asimétricos). La presencia de un centro quiral da origen a la producción de dos isómeros enantiómeros, R (recto) o S (sinistro), con idénticas propiedades químicas, diferenciándose en la disposición espacial de los 4 diferentes grupos químicos unidos al centro quiral, lo cual se traduce en la propiedad que adquiere la molécula de desviar el plano de la luz polarizada a la derecha o a la izquierda. Esta diferente configuración en un átomo de carbono es importante para ejercer la función que se espera de la molécula sintetizada. Así, receptores de membrana, hormonas, moléculas reguladoras y enzimáticas discriminan en su unión hacia los enantiómeros R o S.

Muchas de las enzimas empleadas en la síntesis quimioenzimática de fármacos son enantioselectivas, es decir poseen la propiedad de generar uno solo de los dos posibles enantiómeros, el R o el S, y son capaces de resolver mezclas racémicas

(preparaciones que contienen los dos enantiómeros). Un ejemplo de la conveniencia de obtener fármacos constituidos por enantiómeros puros, es el caso de la talidomida, una droga diseñada como un analgésico, que fue administrada a mujeres con 1-3 meses de embarazo. Muchas de estas mujeres tuvieron hijos sin brazos y piernas (condición conocida como amelia), con las manos unidas a los hombros, estudios posteriores demostraron que la droga estaba constituida por una mezcla racémica de los enantiómeros R y S; el enantiómero R (eutómero) tiene la propiedad sedante, mientras que el S (diastómero) posee la actividad teratogénica (Arroyo *et al.*, 2014). En otros casos, funciones químicas son incorporadas a átomos específicos, constituyentes de anillos, de manera preferencial (regioselectividad), ubicándose en uno solo de los dos planos que definen el anillo (García *et al.*, 2015), generando uno de los dos posibles estereoisómeros, el  $\alpha$  o el  $\beta$ .

El número de enzimas usadas en la síntesis de fármacos es elevado, las penicilin acilasas, las monooxigenasas (hidroxilasas) y las lipasas parecieran ser las más utilizadas. Estas enzimas catalizan diferentes reacciones químicas y comparten la propiedad de ser altamente selectivas, lo cual las capacita para producir isómeros ópticos puros que sirven como precursores moleculares para la síntesis de muchos compuestos de interés en la industria farmacéutica (Melo-Carvalho *et al.*, 2015; Qayed *et al.*, 2015; Jaeger *et al.*, 1994). Otras enzimas utilizadas son las deshidrogenasas, transaminasas, cetoreductasas, esterasas, proteasas, epoxihidrolasas, liasas, transferasas, amino

oxidasas, amidasas (Espinosa-Kominami, 2015; Albarran-Velo *et al.*, 2017).

Las **acilasas** (hidrolasas) catalizan tres tipos de reacciones: adición de componentes orgánicos al núcleo básico de las penicilinas y cefalosporinas (anillo  $\beta$  lactámico) para originar diferentes antibióticos; actividad de amidasa, originando una amina y un ácido carboxílico y actividad de esterasa, originando un ácido y un alcohol (Espinosa-Kominami, 2015). Las **monooxigenasas** (oxidoreductasas), también conocidas como hidroxilasas u oxidasas de función mixta, utilizan  $O_2$  incorporando un átomo de oxígeno al sustrato para originar un alcohol y el otro átomo de oxígeno aparece en el  $H_2O$ , requiriendo la presencia de un cofactor reductor, NADH o NADPH. Debido a que su modo de acción, depende de dos moléculas enzimáticas y una coenzima soluble, la síntesis de derivados hidroxilados ha confrontado dificultades, limitando su uso en procesos industriales, los cuales son preferencialmente realizados con cultivos bacterianos o fúngicos (Urlacher & Girhard, 2019).

Para obviar estas dificultades se han diseñado metodologías que acoplan la actividad hidroxilante a la reductora, creando una molécula enzimática mixta (Urlacher & Girhard, 2019; Di Nardo & Gilardi, 2020). Las monooxigenasas son enzimas muy versátiles que pueden catalizar diferentes tipos de reacciones (Kumar, 2010): hidroxilaciones, epoxidaciones N-dealquilaciones, S-dealquilaciones y desaminaciones. Un grupo importante de monooxigenasas está constituido por los **citocromos P450**, conformado por una superfamilia de más de 100 isoenzimas que efectúan reacciones de hidroxilación y que

se denominan por las siglas CYP seguido de un número que designa la familia y se encuentran en todos los seres vivos desde bacterias hasta el hombre (Voet *et al.*, 2008). Entre sus variadas actividades estas enzimas efectúan la metabolización de fármacos y xenobióticos (inactivos) cuyos productos presentan actividad antineoplásica (Kumar, 2010) y tienen papel preponderante en la síntesis de hormonas esteroideas a partir de colesterol (Nelson & Cox, 2000) y otras propiedades fisiológica y farmacológicamente importantes (García *et al.*, 2015). En procariotes las CYP intervienen en la síntesis de antibióticos y esteroides; en plantas y hongos en la síntesis de fitohormonas e inmunosupresores (Di Nardo & Girardi, 2020).

**Las lipasas** (hidrolasas) catalizan reacciones en las interfases agua/grasa; su actividad depende del medio donde se encuentren. En medios acuosos e intracelulares hidrolizan las grasas originando ácidos grasos y glicerina; si el medio posee una proporción crítica de un solvente orgánico, la reacción preponderante es la síntesis de ésteres, lo cual permite la producción de moléculas con componentes específicos. De tal manera las lipasas pueden catalizar reacciones de hidrólisis de enlaces éster, esterificaciones, transesterificaciones, interesterificaciones y acilación de glicoles (Ghanam & Aboul-Enein, 2015; Qayed *et al.*, 2015; Sharma *et al.*, 2001; Jaeger *et al.*, 1994).

### Síntesis de fármacos antimicrobianos $\beta$ lactámicos

(Arroyo *et al.*, 2014; Castillo-Rosales & Rodríguez-Alegría, 2014; Torres-Bacete, 2005; Espinoza Kominami, 2015).

Las penicilinas y cefalosporinas son los más abundantes antibióticos  $\beta$  lactámicos. La síntesis quimioenzimática de estos antibióticos usualmente implica la producción de las penicilinas G o V y las cefalosporinas G o C por microorganismos. Luego de su aislamiento las penicilinas G, V y cefalosporina G, en condiciones alcalinas, se tratan con la enzima **penicilin acilasa** para generar las moléculas precursoras utilizadas para la síntesis de nuevos antibióticos con propiedades químicas y biológicas mejoradas. Las penicilinas proporcionan el ácido 6 amino penicilánico (6 APA), y la cefalosporina G origina el ácido 7 amino 3 desacetoxicefalospóranico (7ADCA). La cefalosporina C, diferentemente debe ser tratada con una **D amino oxidasa** y la **glutaril amidasa** para generar el ácido 7 amino cefalospóranico (7ACA). Estos tres compuestos (6APA, 7ADCA y 7ACA) son las moléculas precursoras para la síntesis de los nuevos antibióticos, presentando todas ellas el núcleo  $\beta$  lactámico. En presencia de acilasas, estos precursores y moléculas orgánicas diversas (usualmente ácidos) obtenidas por síntesis química y en medio ácido originan en la reacción de síntesis los nuevos antibióticos mediante un enlace tipo amida en el átomo de N del anillo  $\beta$  lactámico precursor. Entre las penicilinas semisintéticas se dispone de ampicilina, amoxicilina, carbonicilina, cloxacilina y clometicilina, entre muchas otras; de las cefalosporinas se sintetizaron la cefalotina, cefamet, cefalexina y cefaclor, entre otras. Los antibióticos  $\beta$  lactámicos actúan al

inhibir la síntesis de la pared celular del microorganismo, específicamente al inhibir la transpeptidación, evento que implica la formación del enlace peptídico entre aminoácidos para formar la capa de peptidoglicano, estructura que evita la lisis de la célula microbiana (Madigan *et al.*, 2004). Otra alternativa para la síntesis de  $\beta$  lactámicos es el uso de la enzima **sintasa ACV**, la cual a partir de una mezcla equimolecular de ácido amino adípico, L cisteína y D valina produce el tripéptido L  $\alpha$  amino L cisteinil D valina (LLDAV), precursor lineal del anillo  $\beta$  lactámico, el cual por acción de la enzima **N isopenicilin N sintasa E1** (conocida como **ciclasa**) genera la dimetil penicilina y un derivado de las cefalosporinas, cefanos (Lancini & Lorenzetti, 1993). El enlace -N-CO del anillo  $\beta$  lactámico es imprescindible para la actividad biológica del antibiótico, su ruptura por acción de las **penicilanasas** es la base para la resistencia bacteriana a este tipo de antibióticos (Daza-Pérez, 1998; Fahad-Ullah *et al.*, 2019; Pérez-Cano & Robles-Contreras, 2014; Raja *et al.*, 2011). Para proteger la actividad biológica de estos antibióticos, en algunos medicamentos  $\beta$  lactámicos se adiciona ácido clavulánico, un inhibidor de las  $\beta$  penicilanasas.

#### **Eicosanoicos (prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos)**

Son derivados del ácido araquidónico, constituyendo hormonas paracrinas implicadas en muchos eventos fisiológicos incluyendo funciones reproductivas (Nelson & Cox, 2000).

Estos compuestos, también quimioenzimáticamente sintetizados, son generados a partir de ciclopentano y sus

derivados en presencia de enzimas, tales como **lipasas** de diferentes orígenes (pancreáticas, micóticas y bacterianas), **esterasas** y **cetoreductasas** de levaduras.

Los derivados del ciclopentano utilizados generalmente constituyen mezclas racémicas, pues son sintetizados químicamente. Estas enzimas adicionan de manera enantio selectiva agrupaciones químicas al núcleo ciclopentano originando moléculas precursoras para los eicosanoicos; la molécula 1, 4 diacetato meso ciclopenteno 2 por acción de **lipasas** de *Mucor meihei*, *Pseudomonas fluorescens* y *Candida rugosa* producen el (1S 4R) 4 hidroxiciclopenteno 2 acetato (el eutómero), precursor de diferentes eicosanoicos (Ghorpe *et al.*, 1999; Kalkote *et al.*, 2000; Melo-Carvalho *et al.*, 2015 ); otra estrategia usa como molécula precursora ésteres metílicos de ácidos grasos monoinsaturados de longitud de cadena corta y **lipasas** de *Pseudomonas*, *Candida*, *Aspergillus* y páncreas porcino, las cuales acetilan el enantiómero R (eutómero), compuesto intermediario para la síntesis de una serie de análogos de prostaglandinas (Patel, 2000). Derivados del ciclopentano benzoil lactona aldehído constituyen otros precursores para la síntesis de análogos de las prostaglandinas, lo cual se alcanza mediante procedimientos químicos y una reacción final catalizada por la **lipasa** de *Candida rugosa* (Shelnut *et al.*, 2015). Entre las diferentes moléculas análogas de las prostaglandinas se reporta la síntesis de bimatoprost y latanoprost, mediante la molécula precursora lactam benzoato (3aR,4R, 5R, 6aS) y el uso de **esterasas**, **enoato reductasas** y **cetoreductasas** (Patel, 2000; Contente *et al.*, 2015). La epoxidación de ácido linoleico mediante el uso de la

**monooxigenasa CYP 102**, origina el leukotoxin B (12,13 epoxi 9 octadecenoato), compuesto intermedio en la producción de eicosanoicos (Siegfried *et al.*, 1990; Quiñones *et al.*, 2008) con actividades antibacterianas, depresor cardiovascular y vasoactivo. Adicionalmente los usos terapéuticos de las prostaglandinas incluyen la prevención de úlceras gástricas, mantenimiento del conducto arterial abierto en recién nacidos, inducción del parto, expulsión del feto muerto, abortivo, y mejoramiento de la circulación y embolia pulmonar, glaucoma e hipotricosis de pestañas (Fernández-Duarte *et al.*, 2015).

#### **Esteroides (hormonas)**

(Niwa *et al.*, 2015).

Este tipo de fármacos se sintetizan haciendo uso de fitoesteroles, moléculas provenientes de plantas (estigmasterol,  $\beta$ sistosterol, diosgenina) y de bilis de animales (ácido desoxicólico, colesterol), (Bhatti & Khera, 2012; Donova & Egorova, 2012). Estos compuestos naturales poseen como rasgo estructural fundamental el núcleo del ciclopentano perhidro fenantreno (CPPHF), un compuesto de cuatro anillos carbonados, el cuál según su origen, presenta diferentes sustituyentes químicos y constituyen las moléculas precursoras de los fármacos a producir. En la síntesis de derivados esteroideos, mediante procedimientos químicos, enzimáticos ó microbiológicos, los diferentes sustituyentes químicos del precursor son eliminados y el núcleo CPPHF se somete a la acción de **monooxidasas (hidroxilasas)**, las cuales introducen funciones alcohólicas de manera regioselectiva en determinadas posiciones y orientaciones del CPPHF para originar los

fármacos deseados (García *et al.*, 2015). Las posiciones y orientaciones más comunes y económicamente deseables involucran la hidroxilación de los carbonos 7 $\alpha$ , 9 $\alpha$ , 11 $\alpha$ , 11 $\beta$ , 16 $\alpha$  y 17 $\alpha$ , pero ocurren otras 16 posiciones particularmente en microorganismos (Ortega de los Rios, 2018); las notaciones  $\alpha$  y  $\beta$  se refieren a la orientación del grupo hidroxilo respecto al plano del núcleo policíclico de CPPHF. La acción fisiológica de los esteroides depende de su estructura: tipo, número, regio y estereo posición de los grupos funcionales atados al núcleo CPPHF: la hidroxilación  $\beta$  en el C11 es esencial para la actividad antiinflamatoria, hidroxilación  $\beta$  en el C17 establece propiedades androgénicas, 3 ceto 5 eno determina actividad corticosteroide y la aromatización del anillo A establece carácter estrogénico (García *et al.*, 2015; Donova & Egorova, 2012). Una alta proporción de los compuestos esteroideos disponibles en la industria farmacéutica se obtienen por métodos microbiológicos, usando una amplia variedad de cepas bacterianas y fúngicas (Bhatti & Khera, 2012; Donova & Egorova, 2012; García *et al.*, 2015.). Del colesterol (C27) se origina la pregnenolona (C21) por acción de la **hidroxilasa 20,22** y posterior clivaje de un fragmento de cinco carbonos (el iso capro aldehído), la cual in vivo da origen a todas las hormonas esteroideas (Niwa *et al.*, 2015). En la industria farmacéutica el estigmasterol se usa para la síntesis de progesterona (C21); la diosgenina para la progesterona, andrógenos (C18), estrógenos (C19) y cortisona (C21); desoxicolato para estrógenos y progesterona;  $\beta$ sistosterol para androstenediona (C19) y de esta se sintetiza testosterona (C18) y estradiol (C19). De la progesterona se puede

obtener hidprogesterona y cortisona (Madigan *et al.*, 2004), mediante hidroxilaciones enzimáticas.

Otra actividad industrial de las **hidroxilasas** es la hidroxilación de la vitamina D3 (colecalfiferol, un compuesto sin actividad, derivado del colesterol y que se produce en la piel) la cual es transformada a 1, 25 dihidroxi vitamina D3 (C27), hormona encargada de regular el metabolismo de Ca y P en hueso, riñón e intestino; in vivo estas hidroxilaciones ocurren secuencialmente en el hígado y el riñón (Nelson & Cox, 2000; Szaleniec *et al.*, 2018).

Un método quimioenzimático transformó el 4 androsteno 3,17 diona (4AD), por acción de una isomerización química seguida de una reducción enzimática mediada por una **cetoreductasa** y una **alcohol deshidrogenasa**, a 3 $\beta$  hidroxandrost 5 en 17 ona y su acetato (DHEA y DHEA acetato), también conocidos como dehidroepiandrosterona. Ambas enzimas fueron aisladas de *Sphingomonas wittichii*, y el 4AD de estigmasterol de soya.

DHEA es precursor de hormonas estrogénicas y androgénicas y un agente antineoplásico (Fryszkowska *et al.*, 2016). La función de las hidroxilasas in vivo, además de la síntesis de todas las hormonas esteroideas, ésta ligada a la detoxificación de xenobióticos (hidrocarburos y drogas sintéticas). La activación de profármacos (drogas inactivas) antineoplásicos necesita de su hidroxilación por parte de hidroxilasas específicas, originándose drogas alquilantes que atacan células malignas al reaccionar con el ADN e inhibir las topoisomerasas I y II (Quiñones *et al.*, 2008). La función de los esteroides es múltiple, constituyen las hormonas sexuales masculinas y femeninas

(testosterona y estrógenos), regulan el ciclo reproductivo (progesterona), la gluconeogénesis (glucocorticoides), el intercambio de Na por K (mineralocorticoides), la fijación de Ca y P en el hueso (vitamina D) y la emulsificación de grasas en el proceso digestivo (sales y ácidos biliares) (Nelson & Cox, 2000). Los fármacos esteroideos se utilizan en una gama amplia de condiciones patológicas, son antiinflamatorios, inmunosupresores y antineoplásicos y se administran en múltiples y variadas insuficiencias. (Gómez-Ordoñez *et al.*, 2007; Bhatti & Khera, 2012; Vega, 2017). Derivados de la testosterona se utilizan como anabolizantes para incrementar la masa muscular (Aguilar *et al.*, 2013) y la progesterona y derivados de estrógenos se utilizan para sintetizar anticonceptivos (Vázquez & Ospino, 2017). Los medicamentos sintéticos antiinflamatorio más utilizados son beclometasona, betametasona, budesónida, deflazacort, dexametasona, flumetasona, metilprednisolona y prednisolona.

#### Antiinflamatorios no esteroideos (profenos)

Estas drogas actúan mediante la inhibición de las ciclooxigenasas I y II, enzimas implicadas en la síntesis de prostaglandinas (Contente, 2015; Gómez-Ordoñez *et al.*, 2007) y se caracterizan por poseer un núcleo químico denominado profeno (ácido 2 aril propiónico), en algunos casos constituido por un anillo aromático sustituido, en uno de sus carbonos, con un radical de ácido éster metil propiónico (Contente *et al.*, 2015) o por el ácido propiónico (Ruiz-Martínez, 2018). Usualmente el profeno, sintetizado por síntesis orgánica, es una mezcla

racémica, la cual al ser tratada con **lipasas** (fúngicas o pancreáticas) y 1 propanol o 2 propanol, permiten separar los dos isómeros, siendo el compuesto (S) ibuprofen 1 propil ester el que posee la actividad biológica (eutómero) mientras el compuesto (R) ibuprofeno es inactivo (diastómero) (Ruiz-Martínez, 2018). Posteriormente, al núcleo profeno (S) modificado se le adicionan compuestos químicos (sintetizados por síntesis orgánica) para generar los diferentes fármacos con características específicas. Entre los diferentes derivados del profeno (S) se encuentran, entre otros, el ibuprofeno, el naproxeno, el cicloprofeno, el flubiprofeno y el cetoprofeno (Contente *et al.*, 2015). Estos fármacos también exhiben actividad analgésica. La actividad antiinflamatoria también es ejercida por esteroides.

#### Antineoplásicos

Algunos de estos fármacos atacan al ADN mediante reacciones de alquilación produciendo aductos (bases nitrogenadas metiladas o etiladas) que inhiben las topoisomerasas I y II en la replicación del material genético en células cancerosas. Una de las estrategias para la síntesis de estas drogas implica la hidroxilación de prodrogas (inactivas), tales como la ciclofosfamida (CPA) e ifosfamida (IFA), por acción de enzimas de la familia del **citocromo P450**, por ejemplo, la **hidroxilasa CYP102**, la cual transforma las prodrogas en agentes alquilantes activos, los cuales son los verdaderos agentes antineoplásicos (Kumar, 2010; Quiñones *et al.*, 2008). Otra droga anticancerosa es el paclitaxel, su molécula precursora, un acetato con un sustituyente aromático, es obtenida de la corteza del árbol tejo del Pacífico (*Taxus brevifolia*) como una

mezcla racémica de ambos enantiómeros. Mediante el uso de **lipasas**, se libera un grupo acetilo del isómero diastomero (S), mientras el isómero (R) queda inalterado y constituye el eutómero con actividad biológica (3R cis acetiloxi 4 fenil 2 acetidinona), el cual posteriormente dará origen al paclitaxel por síntesis orgánica (Ruiz-Martínez, 2018; Quiñones *et al.*, 2008; Melo-Carvalho *et al.*, 2015). El paclitaxel interfiere con los procesos mitóticos celulares al estimular el ensamblaje de microtúbulos a partir de dímeros de tubulina (Ruiz-Martínez, 2018). Otra estrategia usa la hidroxilación de limoneno, mediada por la **hidroxilasa P450 CYP153**, para generar el alcohol perílico, el cual presenta actividad antineoplásica (Shojaei, 2014). Estos compuestos son efectivos en el tratamiento de cáncer testicular, leucemias, glaucoma, retinoblastoma, cánceres de mama, ovario, riñón y pulmón.

#### **Antihipertensivos (derivados del ácido propanoico)**

Algunos de estos fármacos, son quimioenzimáticamente sintetizados a partir de moléculas orgánicas (mezclas racémicas) y el uso de **lipasas/esterasas** fúngicas o bacterianas. Las moléculas precursoras son derivados del ácido 3 tio 2 metil propanoico (Contente *et al.*, 2015). Uno de estos derivados es el ácido 3 acetiltio 2 metil propanoico, que luego de la acción enzimática genera el enantiómero (S) mediante la eliminación de ácido acético. En otro protocolo el ácido 3 benzotio 2 metil propanoico sirve como precursor. Otra molécula precursora es el ester diacetato arílico que luego de ser tratado con **lipasa pancreática** porcina produce el monoester

(S), intermediario para la síntesis de monopril (Contente *et al.*, 2015). Estos fármacos, captopril y monopril, son inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (ECA), la cual cataliza la transformación de angiotensina I a angiotensina II, ésta última molécula es la responsable de elevar la tensión arterial, así al bloquear su formación se obtiene el efecto antihipertensivo (Contente *et al.*, 2015). La estrategia para la síntesis del antihipertensivo bufuralol (S) implica el uso del bromuro de 7 etilbencenofurano 2 yl etanona como molécula precursora, la cual es convertida al alcohol respectivo (mezcla racémica) que posteriormente tratado con **lipasas** de levadura separan los enantiómeros (R) y (S) de bufuralol, (Nagy et al 2014). Este compuesto también exhibe actividad ansiolítica y antimigraña y es un inhibidor de la testosterona 6β hidroxilasa.

#### **Antihipercolesterolemicos (estatinas)**

Drogas que reducen la concentración de colesterol en sangre al inhibir la actividad de la hidroximetil glutaril CoA reductasa (HMGCoA reductasa), enzima que cataliza la conversión de HMGCoA a ácido mevalonico y CoA, reacción intermedia en la síntesis de colesterol.

El núcleo químico común de estos compuestos, denominados estatinas, es el ácido 3(R), 5(R) dihidroxi heptanoico con diferentes sustituyentes aromáticos en el carbono 7 (Contente *et al.*, 2015), lo cual suministra las propiedades específicas de cada fármaco. Para la síntesis de las diferentes estatinas se emplean 4 diferentes enzimas, una **cetoreductasa**, **glucosa deshidrogenasa**, **halohidrina dehalogenasa** y **alcohol deshidrogenasa** (Contente *et al.*,

2015). Entre las estatinas disponibles están: mesovastatina, lovastatina, simvastatina, pravastatina, atorvastatina, cerivastatina, fluvastatina y rosuvastatina (Contente *et al.*, 2015).

### Antiepilépticos

La pregabalina, ácido S3 aminometil 5 metil hexanoico, un antiepiléptico, es un análogo de ácido gamma aminobutírico (GABA, un derivado del ácido hexanoico aminado). La pregabalina actúa al bloquear los canales de Ca en las neuronas. Se obtiene a partir de una mezcla racémica del éster metílico del ácido rac 2 carboxietil 3 ciano 5 metil hexanoico. De esta mezcla racémica se obtiene, mediante el uso de **lipasas**, el enantiómero (S) del ácido 3 ciano 5 metil hexanoico etil éster (el eutémero) precursor de la pregabalina. En otros protocolos el uso de lipasa de *Thermomyces lanuginosus* y como moléculas precursoras rac Ynitro esters y el ácido rac 2 carboxietil 3 ciano 5 metil hexanoico etil éster, ha sido reportado. La droga también tiene actividad antidepresiva (Ruiz-Martínez, 2018). Otra estrategia para la síntesis de antiepilépticos utiliza la reducción del 4 cloro 3 oxobutanoato de etilo por acción de la enzima **alcohol deshidrogenasa** y posterior sustitución del Cl por un grupo ciano mediante el uso de una enzima **halohidrina deshalogenasa** (Gotor-Fernández & Gómez-Degano, 2017).

### Antidiabéticos

La sitagliptina, un agente antidiabético, se obtiene a partir de la prostagliptina mediante aminación reductiva usando isopropil amina y una enzima **transaminasa**, lo cual origina el eutémero enantiómero (R) de la droga y

acetona. El compuesto inhibe la enzima dipeptidil peptidasa 4 (DDP4) (Ruiz-Martínez, 2018). La DDP4 es una enzima proteolítica que hidroliza las hormonas incretinas, GLP1 y GIP, (una fracción de las hormonas secretinas) sintetizadas por el duodeno y yeyuno del intestino delgado, las cuales estimulan la secreción de insulina por el páncreas. (Carretaro-Colomer, 2008).

### Antiasmáticos (antileucotrienos)

Drogas también conocidas como antagonistas de leucotrienos o antileucotrienos, bloquean los receptores celulares de los leucotrienos; tienen actividad antiinflamatoria sobre todo a nivel de bronquios, constituyendo drogas antiasmáticas, antiinflamatorias. Son derivados del ácido araquidónico. Uno de los más conocidos es el montelukast, compuesto que inhibe la enzima 5 LOX. En su síntesis se utiliza la enzima **alcohol deshidrogenasa** para reducir la forma cetónica de su molécula precursora a un alcohol, originando el eutémero (S) montelukast (Gotor-Fernández & Gómez-Degano, 2017; Grarafoni *et al.*, 2017). Otro medicamento antiasmático usualmente empleado es el formoterol, una mezcla racémica, esta droga bloquea receptores adrenérgicos beta 2 en músculo liso bronquial, produciendo su relajación. Su preparación se efectúa mediante el acoplamiento de un epóxido (R) aromático y una amina (R) aromática, mediante el uso de **lipasas** fúngicas o bacterianas, que luego de modificaciones químicas, origina el enantiómero eutémero (RR)1 (Campos *et al.*, 2000); entre ellos están disponibles el isoproterenol, salbutamol, terbutalina.

### Antidepresivos

Son drogas derivadas de aril propano hidroxilados preparados por acción de **lipasas** bacterianas de *Pseudomonas fluorescens* y *Burkholderia cepacia*. Una de las moléculas precursoras es el éster metílico del ácido 3 aril 3 hidroxil propiónico que da origen al enantiomero eutómero (R), entre estas drogas se encuentra la atomoxetina, la nisoxetina y la fluoxetina. También muestran actividad antiparasitaria, corrigen la disfunción sexual e incontinencia urinaria, (Borowiecki & Bretner, 2013). Este tipo de antidepresivos se conocen por las siglas ISRS, son inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (un neurotransmisor) y actúan aumentando los niveles de serotonina en el cerebro (Mayo clinic, 2020).

### Nitrovasodilatadores

Una estrategia muy utilizada para sintetizar fármacos cardiovasculares activos hace uso del 3 oxiaril 2 hidroxil nitro propano (mezcla racémica) y **lipasas** (*Pseudomonas fluorescens* y *Burkholderia cepacia*) para resolver el racemato y originar el enantiomero eutómero (S); estas drogas tienen actividad relajante muscular y cardíaca, y se conocen como nitrovasodilatadores; entre ellos nitroglicerina, dinitrato isosorbide y nicorandil (Pchelka *et al.*, 2001).

### Enzimas como agentes terapéuticos

Una vez demostrado *in vitro* el efecto deseado de un posible fármaco, este debe cumplir una serie de propiedades que garanticen el acceso adecuado al sitio diana al cual se quiere dirigir; los medicamentos enzimáticos no escapan a esta premisa. Entre

los aspectos que se deben considerar están los siguientes: 1- el fármaco debe ser estable en el sitio (órgano) donde ejercerá su acción (pH, presencia de enzimas proteolíticas u oxidativas); 2- debe ser estable en su tránsito por el tracto digestivo hasta incorporarse al torrente circulatorio; 3- no debe unirse fuertemente a estructuras celulares o moleculares; 4- debe ser estable a la acción de enzimas, particularmente a las hepáticas encargadas de la detoxificación de drogas; 5- debe permanecer en el organismo el tiempo necesario para ejercer su acción, es decir evitar su prematura excreción renal; 6- debe de atravesar barreras de capilares y membranas celulares para incorporarse al tejido diana o estructuras membranosas (barrera hematoencefálica) si el fármaco va dirigido al cerebro; tener la concentración suficiente para garantizar una dosis adecuada (Voet *et al.*, 2008). Una relación, aunque no exhaustiva, de enzimas que constituyen o forman parte de medicamentos, especificando su uso en determinadas condiciones fisiológicas y/o patológicas se detalla a continuación.

**Desoxirribonucleasa:** Jones *et al.*, 2003; Enríquez *et al.*, 2012. Fibrosis quística, bronquitis viral, licuefacción de moco (mucolítico).

**Bromelina:** López-Lugo *et al.*, 1996. Antiinflamatorio.

**Pancreatina (mezcla de proteasas, amilasa y lipasas):** Christiansen, 2019. Digestivo, pancreatitis, insuficiencia pancreática, pancreatectomía.

**Calpaína 3:** Jordán *et al.*, 2000; López de Munain *et al.*, 1999. Distrofia muscular.

**Aspariginasa:** Pérez-Aguilar *et al.*, 2012; Ballon-Cossio, 2011. Inmunodeficiencias, anticancerígeno.

**Mananasas:** Soni & Kango, 2013. Alimentación (prebiótico).

**Fitasas:** Frontela *et al.*, 2008. Alimentación (minerales).

**Glucocerebrosidasas:** Moreno *et al.*, 2019. Megalocefalias, hiperplasia del bazo.

**Adenina deaminasa:** Tintos-Hernández, 2011. Inmunodeficiencias.

**Estreptoquinasa:** Gutiérrez-Zárraga *et al.*, 2014. Cirugía cardiovascular, patologías oculares, trombosis venosas, hemorroides.

**Uroquinasa:** Martín-Lorenzo *et al.*, 2005. Remoción de coágulos en catéteres permanentes.

**Hialuronidasa:** Fierro-Arias, 2017; Vázquez-Flores & Asz-Sigall, 2011. Dermatología, relleno de arrugas.

**Esteroid C25 hidroxilasa:** Szaleniec *et al.*, 2018. Deficiencias hepáticas, metabolismo del Ca y P, transformación de vitamina D3 en hormona.

**CYP 2B6 (hidroxilasa/monooxigenasa):** Kumar, 2010. Glaucoma, gliosarcoma.

Bhatti HN; Khera Ra. 2012. Biological transformations of steroid compounds: A review. *Steroids* 77:1287-1290.

Ballón-Cossio D. 2014. L Aspariginasa, un arma de doble filo pero de vital importancia. *Rev bol ped* 53(1): 24-28.

Borowiecki P, Bretner M. 2013. Studies on the chemoenzymatic synthesis of (R) and (S) methyl 3 aryl 3 hydroxypropionates: the influence of toluene pretreatment of lipase preparations on enantioselective transesterifications. *Tetrahedron: Asymmetry* 24(15-16): 925-936.

Campos F, Bosch MP, Guerrero A. 2000. An efficient enantioselective synthesis of (R,R) formoterol, a potent bronchodilator using lipases. *Tetrahedron: Asymmetry* 11(13): 2705-2717.

Carretaro-Colomer M. 2008. Sitagliptina. Antidiabético Oral. *Offarm* 27(8):118-119.

Castillo-Rosales E, Rodríguez-Alegría ME. 2014. Enzimas aplicadas en procesos industriales. *Rev UNAM Mx* 15(2): art96.

Christiansen S. 2019. The Health Benefits of Pancreatin. For Pancreatic Insufficiency (Such as in Cystic Fibrosis). *Holistic Health > Supplements*.

Contente ML, Zambelli P, Galafassi S *et al.*, 2015. A new chemoenzymatic approach to the synthesis of Latanoprost y Bimatoprost. *J Mol Catalysis B: Enzymatic* 114: 7-12.

Daza-Pérez RM. 1998. Resistencia bacteriana a antimicrobianos: su importancia en la toma de decisiones en la práctica diaria. *Inf Ter Sist Nac Salud* 22(3): 57-67.

Di Nardo G; Gilardi G. 2020. Natural compounds as pharmaceuticals: the key role of cytochrome P450 reactivity. *Trends in Biochem Sci* 45(6): 511-525.

Donova MV, Egorova OV. 2012. Microbial steroid transformations: current status and prospects. *Appl Microbiol Biotechnol* 94:1423-1447.

### Bibliografía

Albarrán-Velo J, González-Martínez D, Gotor-Fernández V. 2017. Stereoselective biocatalysis: A mature technology for the asymmetric synthesis of pharmaceutical building blocks. *Biocatalysis and Biotransformation* 35(2): 102-130.

Arroyo M, Acebal C, Mata I. 2014. Biocatálisis y Biotecnología. *Arbor* 190 (768): a156.

Arroyo M. 1998. Inmovilización de enzimas: Fundamentos, Métodos y Aplicaciones. *Ars Pharmaceutica* 39(2): 23-39.

Enriquez A, Chu IW, Mellis C, Lin WY. 2012. Nebulized desoxyribonuclease for viral bronchiolitis in children younger than 24 months. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 11: artCD008395.

Espinosa-Kominami P. (2015). Síntesis quimioenzimática para la obtención de compuestos antiinfecciosos. Universidad Complutense de Madrid.

Fahad-Ullah M, Bhat SH, Tariq M, Abuduhier FM. 2019. *Clinical Significance of Enzymes in Disease and Diagnosis. Biocatalysis* 213-231.

Fernández-Duharte J; Zapata-Blanco E; Santiesteban-Sanqué X et al. 2015. Uso y Abuso de las Prostaglandinas. *Medisan* 19(1): 113-121.

Fierro-Arias L, Campos-Cornejo NG, Contreras-Ruiz J. 2017. Productos enzimáticos (hialuronidasa, colagenasa y lipasa) y su uso en dermatología. *Dermatol Rev Mex* 61(3): 205-219.

Frontela C, Ros G, Martínez C. 2008. Empleo de fitasas como ingredientes funcionales en alimentos. *Arch Latinoamer Nutr* 58(3): 215-220.

Fryszkowska A, Peterson J, Davies N et al. 2016. Development of a chemoenzymatic process for hydroepiandrosterone acetate synthesis. *Org Process Res Dev* 20:1520-1528.

García JL, Ramos R, Gómez J, et al. (2015). Biotransformación de esteroides con diferentes microorganismos. *Rev mex cienc farm* 46 (1):17-32.

Ghanem A, Aboul-Enein HY. 2005. Application of lipases in kinetic resolution of racemates. *Chirality* 17(1): 1-15.

Ghorpade S, Kharul RK, Joshi RR et el 1999. Desymmatrization of meso cyclopenten cis 1,4 diol to 4(R) hydroxycyclopenten 2 en 1(S) acetate by irreversible transesterification using

Chirazyme. *Tetrahedron: Asymmetry* 10: 891-899

Gómez-Ordoñez S, Gutiérrez-Álvares AM, Valenzuela-Plata EL. 2007. Corticoides: 60 años después, una asignatura pendiente. *Rev Cienc Salud Bogotá (Colombia)* 5(3): 58-69.

González O, Quishpe S, Pozo R. 2012. Biosensores. Pp 1-18. Escuela Politécnica Nacional, Facultad de Ingeniería Eléctrica y Electrónica. Instrumentación Biomecánica.

González-Rumayor V, García-Iglesias E, Ruiz-Galán D, Gago-Cabezas L. 2005. Aplicaciones de biosensores en la agroindustria alimentaria.

Gotor-Fernández V, Gómez-Degano MJH. 2017. Biocatálisis aplicada. Las enzimas como herramientas útiles en síntesis orgánica. *An Quim* 113(1): 27-36.

Grarafoni F, Catanaccio V, Telechea H, Giachato G. 2017. Montelukast en menores de 5 años con sibilancias recurrentes ¿Cuáles son sus beneficios? *Arch Pediatr Urug* 88(3): 168-172.

Gutiérrez-Zarraga J, Mendoza-Gutiérrez E, Rodríguez- Wong U. 2014.

Estreptoquinasas: usos y aplicaciones médicas. *Rev Hosp Jua Mex* 81(3): 161-165.

Hamalatha T, UmaMaheswari T, Krithiga G et al. 2013. Enzymes in clinical medicine: An overview. *Indian Journal of Experimental Biology* 51, Oct: 778-788.

Inram-Bokhari M, Sarwar-Khan N, Rashid N. 2016. Industrial biotechnology. Its applications in food and chemical industries. Chapter 22, pp518-527. En *Applied Molecular Biotechnology*. M Sarwan-Khan, I Ahmed-Khan, D Barh, editores. CRC Press.

Jaeger KE, Ransac S, Dijkstra BW et al. 1994. Bacterial lipases. *FEMS Microbiol Rev* 15: 29-63.

Jones AP, Wallis C, Kearney CE. 2003. Desoxirribonucleasa humana recombinante

para la fibrosis quística. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 3: artCD001127.

Jordán J, Galindo MF, Ceña V, González-García C. 2000. Cistein proteasas y neurodegeneración. *Rev Neurol* 31(4): 333-340.

Khan NT. 2018. Enzyme Technology-An Emerging Trend in Biotechnology. *Enz Eng* 7(1): 1-3.

Kalkote UR; Ghorpade SR, Joshi RR et al. 2000. A practical and scalable process for 4-(R) hydroxycyclopent-2-en-1-(S)-acetate by desymmetrization of meso-cyclopent-2-en-1,4-diacetate catalyzed by *Trichosporum beigelii* (NCIM 3326) a cheap biocatalyst. *Tetrahedron: Asymmetry* 11: 2965-2970.

Kumar S. 2010. Engineering cytochrome P450 biocatalysts for biotechnology, medicine and biorremediation. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 6(2): 115-131.

Lancini G, Lorenzetti R. 1993. Biological transformations. Chapter 8, pp194-214. En *Biotechnology of Antibodies and other Bioactive Microbial Metabolites*. Springer Science+Business Media LLC.

López-Lugo I, Diaz-Varela J, Merino de Cáceres F. 1996. La bromelina: una proteasa de interés comercial. *Ciencia y Tecnología Alimentaria* 1(2): 17-22.

López de Munain A, Urtasun A, et al. 1999. Alteraciones en las proteínas funcionales. Déficit de calpaína 3. *Rev Neurol* 28(161): 158-164.

Madigan MT, Martinko JM, Parker J. 2004. Brock Biología de los Microorganismos, 10ª edición. Capítulo 30, pp 140-142, 164, 165, 961-963, 971. Pearson Prentice Hall.

Martín-Lorenzo A, Bartolomé-Rapado MC, Tameron-Nieto A. 2005. La uroquinasa aplicada de forma precoz, “clave” para la obstrucción de catéteres permanentes. *Rev Soc Esp Enferm Nefrol* 8(2): 98-102.

Mayo Clinic. 2020. Inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRS).

Melo-Carvalho ACL, Sousa-Fonseca T, Mattos MC et al. 2015. Recent advances in lipase mediated preparation of pharmaceuticals and their intermediates. *Int J Mol Sci* 16(12): 29682-29716.

Moral S, Ramírez-Coutiño L, García-Gómez MJ. 2015. Aspectos relevantes del uso de enzimas en la industria de alimentos. *Rev Iberoamericana de Ciencias*. 2(3): 87-102.

Moreno B, Kaminski S, Navarro L. 2019. La glucocerebrosidasa y la enfermedad de Gaucher. *Chem Evol*.

Nagy B, Dima N, Paizs C et al. 2014. New chemoenzymatic approaches for the synthesis of (R) and (S) bufuralol. *Tetrahedron: Asymmetry* 25: 1316-1322.

Nelson DL, Cox MM. 2000. *Lehninger Principles of Biochemistry*. 3<sup>rd</sup> edition. Worth Publishers.

Pp 378-380, 800, 803, 813.

Niwa T, Murayama N, Imagawa Y, Yamazaki M. 2015. Regioselective hydroxylation of steroid hormones by human P450. *Drug Metab Rev* 47(2): 89-110.

Patel NR. 2000. XIII Prostaglandin Synthesis. En *Stereoselective Biocatalysis*. Chapter 4, pp121-125. N R Patel editor. Marcel Dekker, Inc. New York: Basel.

Pchelka BK, Loupy A, Plenkievicz I et al. 2001. Resolution of Racemic 3Aryl 1 Nitropropane2 ols by Lipase Catalyzed Enantioselective Acetylation. *Tetrahedron: Asymmetry* 12: 2109-2119.

Pérez-Aguilar MC, Gonzáles L, Bonfante-Cabarcas R. 2012. Adenosin deaminasa en el síndrome de inmunodeficiencia combinada severa. *Invest Clin* 53(3): 315-329.

Pérez-Cano HT, Robles-Contreras A. 2014. Aspectos básicos de los mecanismos de resistencia bacteriana. *Rev Med MD* 4(3): 186-191.

Qayed WS, Aboraia AS, Abdel-Rahman HM, Youssef AF. 2015. Lipase Catalyzed Enantioselective Kinetic Resolution of Alcohols. *J Chem Pharm Res* 7(5): 311-322.

Quiñones L, Rosero M, Roco A et al. 2008. Papel de las enzimas citocromo P450 en el metabolismo de fármacos antineoplásicos: situación actual y perspectivas terapéuticas. *Rev Med Chile* 136(10): 1327-1335.

Raja MMM, Raja A, Imran MM et al. 2011. Enzyme application in diagnostic prospects. *Biotechnology* 10(1): 51-59.

Raveendran S, Parameswaran B, Beevis S et al. 2018. Applications of Microbial Enzymes in Food Industry. *Food Technol Biotechnol* 56(1): 16-30.

Ruiz- Martínez L. 2018. Biocatalizadores como herramientas en el desarrollo sostenible de fármacos (I). Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid.

Serna-Cock L, Zetti-Arenas A, Ayala-Aponte A. 2009. Use of Enzymatic Biosensors as Quality Indices. A Synopsis of Present and Future. Trends in the Food Industry. *Chilean J Agri Res* 69(2): 270-280.

Sharma R, Chisti Y, Chad-Banerjee U. 2001. Production, Purification, Characterization and Applications of Lipases. *Biotechnology Advances* 19: 627-662. Industry. *Food Technol Biotechnol* 56(1): 16-30.

Shelnut EL, Nikas SP, Finnegan DF. 2015. Design and synthesis of novel prostaglandin E<sub>2</sub> ethanolamide and glycerol ester probes for the putative prostamide receptor (S). *Tetrahedron Lett* 56(11):1411-1415.

Shojaei S, Kiumarsia A, Rezaei-Moghadam A. 2014. Perillyl alcohol (monoterpene alcohol), Limonene. Chapter 2, pp7-32. En *Natural Products and Cancer*

Signaling: Isoprenoids, Polyphenols and Flavonoids. F Tamanoi, S Bathaei editores

Soni H, Kango N. 2013. Microbial mannanases: properties and applications. Chapter 4, pp41-46. En *Advances in Enzyme Technology*. P Shukla, BI Pletschke, editores. Springer.

Szaleniec M, Wojtkiewicz AM, Bernhardt R, Borowski T, Donova M. 2018. Bacterial steroid hydroxylases: enzyme classes, their functions and comparison of their catalytical mechanisms. *Appl Microbiol Biotechnol* 102(19): 8173.

Tintos-Hernández JA, Dávalos-Rodríguez IP. 2011. Deficiencia de Adenosina Deaminasa (ADA): aspectos clínicos, bioquímicos, moleculares y de tratamiento. *Rev Invest Clin* 63(1): 75-83.

Tórrez-Bacete J. 2005. Clonación, separación y caracterización de las penicilasas de *Streptomyces lavandulae* y *Actinoplanes utahensis*. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Complutense de Madrid.

Urlacher VB; Girhard M. 2019. Cytochrome P450 monooxygenases in biotechnology and synthesis biology. *Trends in Biotechnology* 37(8): 882-897.

Vázquez-Flores H, Asz-Sigall D. 2011. Hialuronidasa: aplicaciones dermatológicas. *Dermatología CMQ* 9(4): 292-294.

Vázquez-Award D, Ospino AM. 2020. Anticonceptivos Orales Combinados. *Ginecol Obstet Mex* 88(supl 1): S13-S31.

Vega DM. 2017. Uso clínico de glucocorticoides. Uso de esteroides sistémicos en patologías frecuentes. *Salud y Medicina*

Voet D, Voet JG, Pratt CW. 2008. Fundamentos de Bioquímica. La vida a nivel Molecular. 2ª edición. Editorial Médica Panamericana. Pp389-390