



## HIDROLISIS ENZIMATICA DE ESTERES DEL ACIDO 2-CARBOXI-6-METOXI-2,3-DIHIROBENZOFURANO UTILIZANDO LIPASA DE *Candida antarctica*.

Ricardo Tovar-Miranda, Raúl Cortés-García, Samuel Cruz-Sánchez, Rodolfo Méndez-Bellido, Arturo Coaviche y Héctor Luna. Instituto de Ciencias Básicas, Universidad Veracruzana, Av. Dr. Rafael Sánchez Altamirano s/n Col. Industrial Animas, C.P. 91190 Xalapa, Veracruz. Tel. 841-89-00 Ext. 13168, Fax 841-89-32, e-mail: [rtovar@uv.mx](mailto:rtovar@uv.mx).

Palabras clave: *Resolución, Lipasa de Candida antarctica.*

**Introducción.** El sistema 2,3-dihidrobencofurano se encuentra en un número importante de compuestos con importantes actividades farmacológicas. Son usados en retinopatías diabéticas, artritis(1), en el tratamiento de arteroesclerosis, hepatopatías, enfermedades vasculares del cerebro(2) y como antioxidantes(3). Los benzofuranos enantioméricamente puros han sido obtenidos mediante la preparación de las sales diatereoisoméricas utilizando aminas quirales(4). Este proceso es largo puesto que requiere que la sal formada sea sólida y esta se recristaliza varias veces hasta rotación óptica constante que dará el compuesto ópticamente puro.

En este trabajo se plantea el uso de enzimas para la resolución, mediante la hidrólisis, de esteres del ácido 2-carboxi-6-metoxi-2,3-dihidrobencofurano.

**Metodología.** La lipasa de *Candida antarctica* (CAL B), fue utilizada sin ningún tratamiento adicional. Un procedimiento típico para la hidrólisis consiste en disolver el ester en una mezcla de dioxano(d)-terbutanol(tb) (9:1) en una concentración de 50g/L y adicionar la enzima (25g/L). La reacción se agitó por 60 min. a temperatura ambiente, se filtro y el filtrado fue diluido con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. La fase orgánica se lavó con NaOH al 5%, seguido de agua, se seco y evaporo para dar el ester correspondiente. Los lavados con base fueron acidificados para recuperar el ácido con éter etílico. La fase orgánica se lavó con agua, se seco y evaporo dar el ácido como un sólido.

**Resultados y discusión.** Se determino primeramente que disolvente seria el adecuado para llevar acabo el estudio. Para ello se probaron proporciones de d-tb, encontrándose que la mezcla d-tb (9:1) fue donde se obtuvieron los excesos enantioméricos mas altos, cuando el ester etílico fue utilizado como sustrato. Se debe señalar que los solventes utilizados fueron usados directamente de la botella sin purificación adicional. Los esteres probados se detallan en la Figura 1.

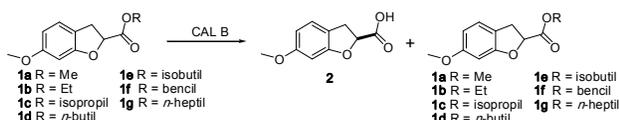


Figura 1. Esteres sometidos a hidrólisis con CAL B.

Los resultados de la hidrólisis con CAL B se describen en la Tabla 1. Los esteres **1d** y **1e** fueron los de mejores resultados, obteniéndose los ácidos correspondientes en 84 y 89% de ee, respectivamente. Con los esteres de mayor ee se continuo el estudio, así

**1d** y **1e** fueron sometidos a experimentos para incrementar los ee, así que se realizaron cinéticas tomando alícuotas cada 30 minutos hasta 150 min.

Tabla 1. Hidrólisis enzimática a temperatura ambiente.

Ester	ee (Ester) <sup>a</sup>	% <sup>b</sup>	ee (Acido) <sup>a,c</sup>	%
<b>1a</b>	65.9	29.3	27.0	27.2
<b>1b</b>	66.6	48.8	75.5	45.0
<b>1c</b>	10.7	82.1	43.8	16.6
<b>1d</b>	48.8	47.0	83.7	52.1
<b>1e</b>	7.0	63.0	88.8	35.5
<b>1f</b>	9.7	78.1	33.2	20.9
<b>1g</b>	41.3	59.5	78.9	39.0

<sup>a</sup>Determinado por HPLC.

<sup>b</sup>Ester recuperado.

<sup>c</sup>La pureza óptica de ácidos se determinó como esteres metílicos.

Estas cinéticas se llevaron a cabo a 180 y 300 rpm. Aislándose el ácido en 99% de ee. Cuando se usa **1e** como sustrato a 180 rpm en 120 minutos. Mientras que a 300 rpm **1e** reacciona en 90 min. Recuperándose el ácido en 97% de ee. Se llevaron a cabo también pruebas preparativas, utilizando 700 mg, tanto de **1d** como de **1e**. Los resultados se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Resultados de la hidrólisis enzimática con 700mg.

Ester	Ester (mg)	%	ee	Acido (mg)	%	ee <sup>a</sup>
<b>1d</b>	314	44.9	58.9	297	53.6	49.9
<b>1e<sup>a</sup></b>	323	46.1	95.3	286	52.3	64.3

<sup>a</sup>Determinado por HPLC como ester metílico.

**Conclusiones.** Se observó buena selectividad de la lipasa de *Candida antarctica* para los esteres **1d** y **1e**. Al determinarse el signo de la rotación óptica para el ácido obtenido, se concluyo que es de configuración *S*.

**Agradecimiento.** Dr. Gerardo Valerio Alfaro. Instituto Tecnológico de Veracruz.

### Bibliografía.

1. Apers, S., Paper, D., Bürgermeister, J., Baronikova, S., Van Dyck, S., Lemiére, G., Vlietinck, A. y Pieters, L. (2002). Antiangiogenic Activity of Synthetic Dihydrobenzofuran Lignans. *J. Nat. Prod.* 65(5): 718-720.
2. Kuethe, J. T., Wong, A., Journet, M. y Davies, I. W. (2005). A Rapid Synthesis of 2-Aryl-5-substituted-2,3-dihydrobenzofurans. *J. Org. Chem.* 70(9): 3727-3729.
3. Park, N.-S., Jung, Y.-S., Park, C. H., Seong, C.-M. y Lim, H.-J. (2001). Synthesis of Novel 2-Aryl-2-methyl-2,3-dihydrobenzofurans. *Bull. Korean Chem. Soc* 22(2): 139-140.
4. Tovar-Miranda, R., Cortés-García, R., Trinidad-Nino, L. R. y Joseph-Nathan, P. (1999). Synthesis and Absolute Configuration of (*S*)-(-) and (*R*)-(+)-2,3-Dihydro-2-(1-methylethenyl)-6-methoxybenzofuran. *J. Nat. Prod.* 62(8): 1085-1087.