

## TEMA 5.- Inhibidores enzimáticos

*Inhibidores de la Ruta del Ácido Fólico. Inhibidores de la anhidrasa carbónica.  
Inhibidores de la biosíntesis de pirimidinas y purinas.  
Inhibidores de polimerasas de ADN. Inhibidores de enzimas de transcripción.  
Inhibidores de las MAO. Inhibidores de la COMT.*

Los inhibidores enzimáticos son moléculas que se unen a enzimas y disminuyen su actividad. Las enzimas tienen como hemos visto una importancia fundamental en el funcionamiento celular. Prácticamente todas las funciones de la célula requieren directa o indirectamente la presencia de enzimas para que ocurran a una velocidad adecuada las reacciones químicas que en definitiva son las responsables de esas funciones. La actividad enzimática no siempre es biológicamente útil. Una actividad incontrolada, por ejemplo de las proteasas de la coagulación, tendría fatales consecuencias. Por este motivo, la naturaleza ha desarrollado un gran número de inhibidores enzimáticos que frenan la actividad enzimática o llegan a anularla por completo. Estos inhibidores enzimáticos naturales están implicados en la regulación del metabolismo de la célula. Por ejemplo, las enzimas en una ruta metabólica pueden ser inhibidas por los productos resultantes de sus respectivas rutas (*retroalimentación negativa*). La inhibición detiene la ruta bioquímica cuando los productos comienzan a acumularse y es una manera importante de mantener la homeostasis<sup>1</sup> en una célula. Otros inhibidores enzimáticos celulares son proteínas que se unen específicamente e inhiben una diana enzimática. Esto puede ayudar a controlar enzimas que pueden ser dañinas para la célula, como las proteasas o nucleasas.

El hecho de que las enzimas catalicen prácticamente todas las reacciones biológicas relevantes otorga a los inhibidores naturales o sintéticos un destacado valor terapéutico. De acuerdo con estos principios, es razonable esperar que si se inhibe más allá de ciertos límites la actividad de alguna o algunas enzimas, las células no puedan sobrevivir. De acuerdo con esto, los inhibidores de enzimas pueden usarse como *agentes farmacodinámicos* o *quimioterápicos*.

El uso de inhibidores enzimáticos como agentes quimioterápicos se basa en el principio de inhibición de ciertas enzimas diferenciables que no se encuentran en el organismo afectado pero sí en las células de los agentes extraños. Ejemplo de estos inhibidores son los agentes antimicrobianos. Los agentes antimicrobianos sintéticos son fármacos capaces de matar bacterias pero que no se han obtenido o inspirados a partir de productos naturales (no así los antibióticos). Algunos de estos agentes son extremadamente efectivos para el tratamiento de infecciones y son ampliamente usados. La gran mayoría de los agentes antimicrobianos sintéticos presentan una actividad frente a enzimas claves en la biosíntesis de ácidos nucleicos. Dado que interrumpen la síntesis de los ácidos nucleicos y no producen modificación en las secuencias de los

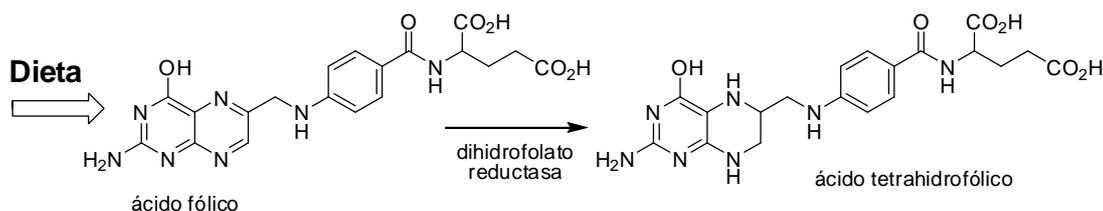
---

<sup>1</sup> Regulación del ambiente interno de la célula para mantener una condición estable y constante necesaria para la supervivencia celular.

mismos no son considerados genotóxicos<sup>2</sup> y son relativamente seguros de usar como medicamentos.

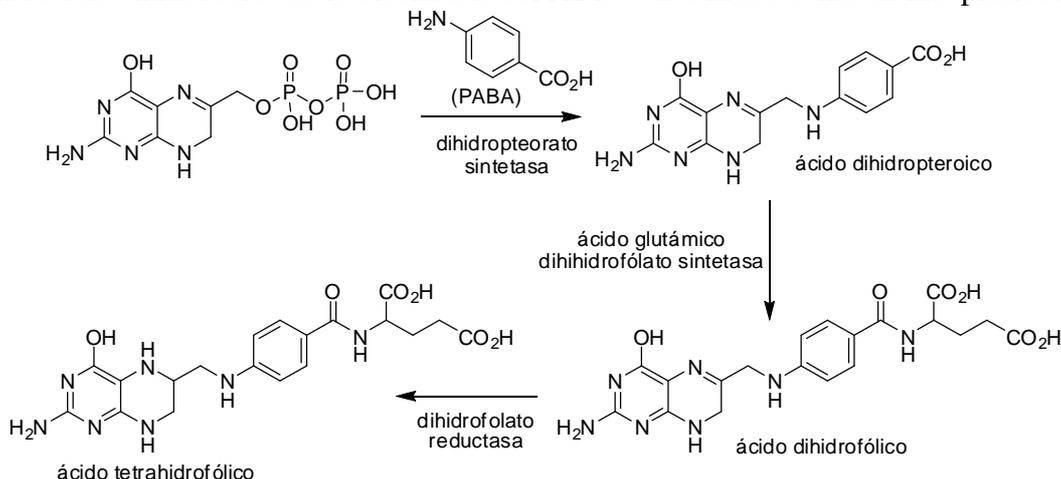
## 1. Inhibidores de la Ruta del Ácido Fólico

El ácido fólico pertenece al grupo de las vitaminas B y se halla ampliamente distribuido en la naturaleza. Es necesario para la biosíntesis de proteínas estructurales, hemoglobina así como es un cofactor esencial para la síntesis de purinas y en última instancia de ADN. Sin embargo es su forma reducida, el ácido tetrahidrofólico la que presenta la actividad, entre otros procesos, como transportador de grupos metilo en la biosíntesis de purinas y pirimidinas.



### Biosíntesis del ácido tetrahidrofólico en célula de mamífero

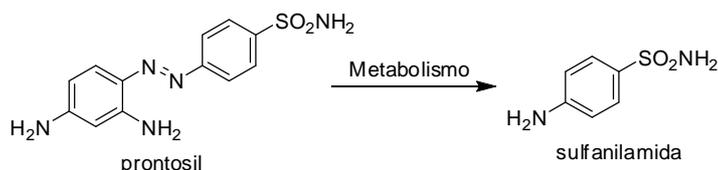
En los mamíferos, el ácido tetrahidrofólico proviene de la reducción del ácido fólico obtenido a partir de la dieta. Por el contrario, en las bacterias se sintetiza a partir de la dihidropterina y del ácido glutámico. Estas diferencias bioquímicas entre las células bacterianas y las humanas son fundamentales para explicar la selectividad de los inhibidores de la dihidropterato sintetasa como fármacos antibacterianos. Por otra parte dada la participación del ácido tetrahidrofólico como cofactor en la biosíntesis de bases nitrogenadas en los mamíferos, los inhibidores de la dihidrofolato reductasa pueden considerarse inhibidores de la biosíntesis del ADN con utilidad como antineoplásicos.



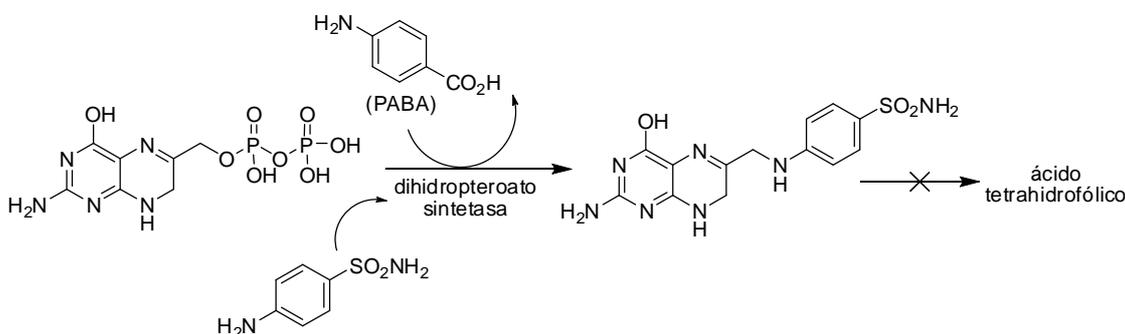
### Biosíntesis del ácido tetrahidrofólico en célula bacteriana

<sup>2</sup> Tóxico (dañino) para el ADN. Las sustancias genotóxicas pueden unirse directamente al ADN o actuar indirectamente mediante la afectación de las enzimas involucradas en la replicación del ADN y causando, en consecuencia, mutaciones que pueden o no desembocar en un cáncer. Las sustancias genotóxicas no son necesariamente cancerígenas, pero la mayor parte de los cancerígenos son genotóxicos.

Las sulfonamidas fueron descubiertas a principios de los años 1930 a partir de estudios con ciertos colorantes azoicos usados en la tinción de bacterias. Se pensó que el *prontosil rubrum* (sulfacrisoidina) presentaba selectividad frente a ciertas bacterias patógenas y no en células humanas. Pero pronto se descubrió que el prontosil rubrum presentaba actividad in vivo contra infecciones por estreptococos en ratones pero no in vitro. Posteriores estudios revelaron que la sustancia activa era la *p*-aminobencenosulfonamida (sulfanilamida), el metabolito obtenido por reducción en el hígado del colorante.



El descubrimiento de la actividad antibacteriana de las sulfonamidas marcó el inicio de los agentes quimioterápicos. Éstos actúan como bacterostáticos inhibiendo la enzima dihidropteroato sintetasa compitiendo por el centro activo con el PABA, el sustrato endógeno de la enzima en la biosíntesis del ácido dihidrofólico. Se dice que la sulfanilamida es un *antimetabolito*<sup>3</sup> ya que reacciona en el centro activo de la enzima pero el producto es no funcional. En estas circunstancias las bacterias no pueden replicarse y finalmente mueren. Sin embargo, las células humanas que no poseen la capacidad de generar ácido fólico (carecen de la enzima dihidropteroato sintetasa) deben tomarlo de la dieta por lo que el efecto de las sulfanamidas no es letal.



Una vez establecido el potencial quimioterapéutico de este nuevo tipo de compuestos, se iniciaron investigaciones encaminadas al establecimiento de sus relaciones estructura-actividad y a la optimización de su espectro de acción y de sus propiedades farmacocinéticas. De la gran cantidad de análogos estudiados se dedujeron unas relaciones estructura-actividad relativamente simples.

<sup>3</sup> Antimetabolito es un compuesto exógeno que se incorpora en una secuencia biosintética para dar lugar a un análogo no funcional del producto final. Si la secuencia biosintética así alterada conduce a la muerte celular se dice que el antimetabolito da lugar a una *síntesis letal*.



En general, deben tenerse en cuenta las siguientes observaciones:

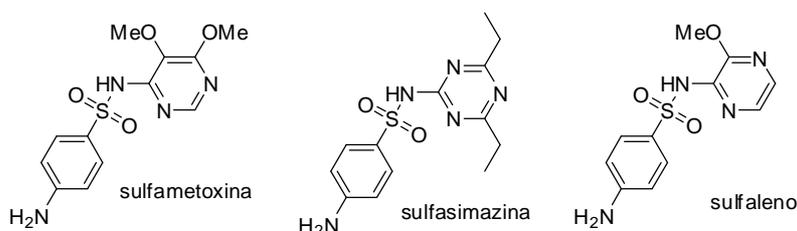
- El anillo bencénico disustituido en las posiciones 1 y 4 resulta esencial para la actividad antibacteriana. Su reemplazo por otros sistemas aromáticos, así como la presencia de sustituyentes en otras posiciones diferentes conducen a análogos prácticamente desprovistos de actividad.
- El grupo amino de la posición 4 ( $N^4$ ) debe estar libre o sustituido por grupos fácilmente metabolizables.
- La monosustitución del átomo de nitrógeno del radical sulfonamido ( $N^1$ ) con radicales de tipo heteroaromático conduce a compuestos más activos. Según la naturaleza de la sustitución quedarán afectadas las propiedades farmacocinéticas y fisicoquímicas de la sulfonamida, lo que determinará la utilidad terapéutica de la misma. En cualquier caso, resulta esencial el mantenimiento del carácter ácido por las repercusiones que ello implica con relación a su mecanismo de acción.

Aunque la mayor parte de las sulfonamidas fueron desplazadas paulatinamente tras el descubrimiento de los antibióticos, todavía ocupan un papel terapéutico relevante en el tratamiento de ciertas infecciones sistémicas y, especialmente, en infecciones intestinales y urinarias.

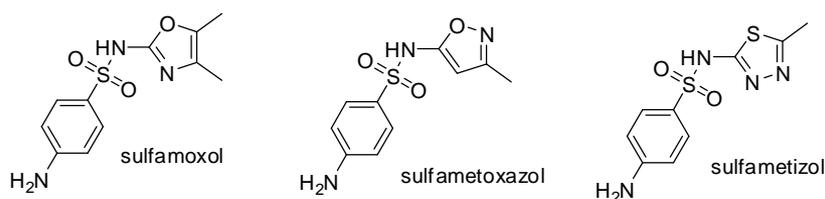
Las dos propiedades fisicoquímicas más importantes con relación a la eficacia y aplicaciones terapéuticas de las sulfonamidas son el grado de ionización (relacionado con el pKa) y la lipofilia. Ambos parámetros dependen de la naturaleza del sustituyente aromático unido al átomo de nitrógeno del grupo sulfonamida. Grupos aromáticos atrayentes de electrones sobre  $N^1$  conducen a un aumento en la acidez de la sulfonamida. Desde un punto de vista galénico, este hecho tiene importancia por permitir la formación de sales solubles en agua, especialmente útiles en la formulación de inyectables. La poca solubilidad de las primeras sulfonamidas producían efectos secundarios como la cristalización en la orina causando daños en el riñón. La sustitución de anillos aromáticos en  $N^1$  reducen el pKa y por tanto la solubilidad en agua. El pKa del sulfisoxazol, uno de las sulfanamidas más populares hoy en día, es de 5,0 cercano al valor 6.5 del PABA.

|  | R |                | pKa  |
|--|---|----------------|------|
|  | H | sulfanilamida  | 10.2 |
|  |   | sulfapiridina  | 8.4  |
|  |   | sulfatiazol    | 7,1  |
|  |   | sulfadiazina   | 6,5  |
|  |   | sulfacarbamida | 5.4  |
|  |   | sulfisoxazol   |      |

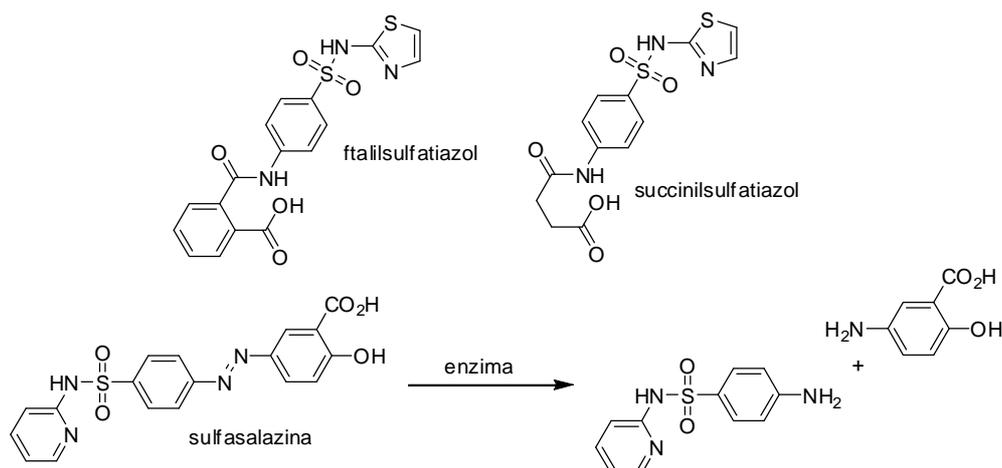
Por otra parte, la solubilidad en lípidos constituye otro parámetro a considerar en la actividad terapéutica de estos compuestos. En general, las sulfonamidas de elevada lipofilia muestran una vida media plasmática alta como consecuencia de su elevada reabsorción tubular. Por este motivo están especialmente indicadas en el tratamiento de infecciones sistémicas. La mayor parte de este grupo de sulfonamidas se caracteriza por presentar en N<sup>1</sup> un sistema heterocíclico aromático de seis miembros con uno o varios átomos de nitrógeno, tales como piridina, pirimidina, pirazina o *s*-triazina.



Cuando el sistema heterocíclico en N<sup>1</sup> es de naturaleza polar, las sulfonamidas resultantes presentan una velocidad de eliminación renal elevada por lo que están especialmente indicadas en el tratamiento de infecciones del tracto urinario. En general, los sistemas heterocíclicos de cinco miembros con dos o más heteroátomos (oxazol, tiazol, pirazol, tiadiazol, etc.) suelen conferir este comportamiento farmacocinético.



La mayoría de los procesos metabólicos que tienen lugar sobre las sulfonamidas conducen a su inactivación. Sin embargo, ciertas sulfonamidas se han diseñado como profármacos que requieren un proceso metabólico previo para su activación. Este es el caso de las sulfonamidas de acción intestinal. Estas sulfonamidas se caracterizan por su escasa o nula absorción oral como consecuencia de su elevado grado de ionización debido al sustituyente en posición N<sup>4</sup>. Sin embargo, en el tramo final del intestino pueden experimentar una activación metabólica por acción de los propios microorganismos de la flora intestinal. Así, el ftalilsulfatiazol y el succinilsulfatiazol se activan por hidrólisis del grupo carboxamido, mientras que la sulfasalazina requiere la reducción metabólica del grupo *azo*. En este caso, además de la sulfonamida se libera el ácido aminosalicílico que actúa como antiinflamatorio. La sulfasalazina puede considerarse, además de un profármaco, un híbrido reversible metabólicamente.

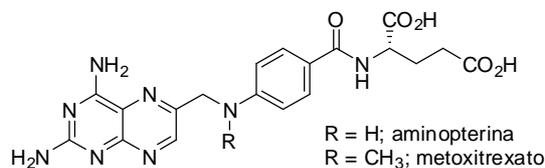


Puesto que en el tramo final del intestino, donde tiene lugar la bioactivación de estos compuestos, la absorción es escasa, este tipo de sulfonamidas son adecuadas para el tratamiento de infecciones bacterianas a ese nivel.

La inhibición de la dihidrofolato reductasa (DHFR) da lugar igualmente a la inhibición de la biosíntesis del ácido tetrahidrofólico. Sin embargo, este proceso es común en las bacterias y en las células eucariotas, por lo que el potencial terapéutico de los compuestos capaces de inhibir esta etapa dependerá de su selectividad frente a ambos tipos de células.

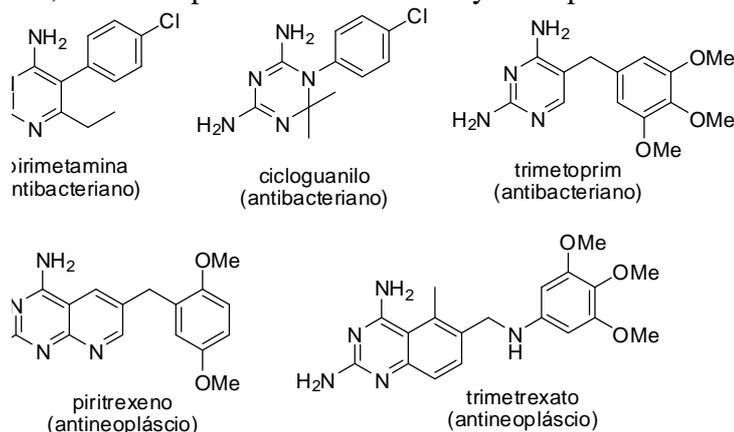
La inhibición de esta etapa en la célula eucariota ha permitido la obtención de fármacos con utilidad como antineoplásicos. La inhibición de la dihidrofolato reductasa implica una reducción de la biosíntesis de purinas y pirimidinas en las células humanas cuyo resultado es la inhibición de la duplicación del DNA. Aunque este proceso no afecta exclusivamente a las células cancerosas, es más importante en estas dadas su elevada velocidad de duplicación.

Desde un punto de vista estructural, los antineoplásicos inhibidores de la dihidrofolato reductasa son análogos del ácido fólico. Se denominan análogos de «molécula completa» por su similitud estructural con este y también para diferenciarlos de otro tipo de inhibidores de la misma enzima pero de estructura más sencilla (análogos de «molécula corta»). Entre los análogos del ácido fólico de «molécula completa» se encuentran la aminopterina o el metotrexato.



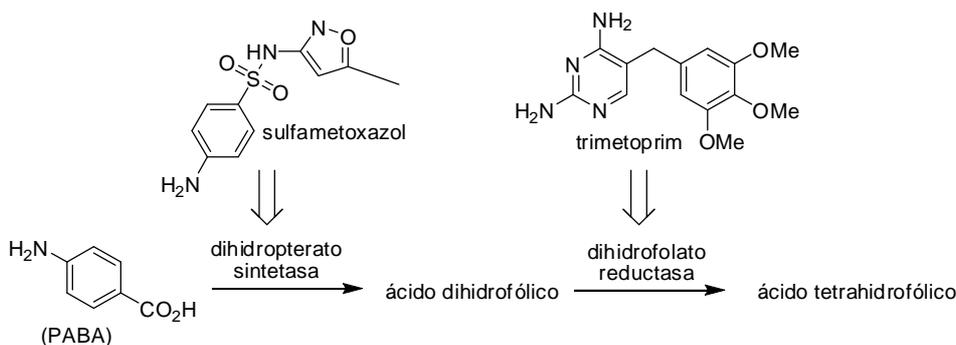
Estos compuestos se enlazan al centro activo de la dihidrofolato reductasa con una afinidad estimada entre 3.000 y 10.000 veces superior a la del sustrato natural, el ácido dihidrofólico. Esta mayor afinidad se atribuye a la mayor basicidad del sistema de 2,4-diaminopteridina, unas 1.000 veces más básico (3 unidades de pK,) que la 2-amino-4-hidroxipteridina presente en el ácido dihidrofólico. En consecuencia, la porción aromática está extensamente protonada a pH fisiológico, lo que permite el establecimiento de fuertes interacciones de enlaces de hidrógeno con el centro activo. A

partir de estas moléculas se desarrollaron los análogos de cadena corta. Presentan en la estructura la unidad 2,4-diaminopirimidina con sustituyente tipo arilo.



Es interesante resaltar el hecho de que no todos los compuestos presentan la misma selectividad frente a la enzima humana y la bacteriana, lo que está relacionado con diferencias entre las dihidrofolato reductasas de diferentes organismos. Así, mientras que el piritrexeno y el trimetrexato se emplean como antineoplásicos, el trimetoprim, la pirimetamina y el cicloguanilo son selectivos frente a la dihidrofolato reductasa bacteriana por lo que se emplean como antibacterianos.

En la terapia antibacteriana pueden emplearse combinaciones de fármacos que bloqueen la biosíntesis del ácido tetrahidrofólico a dos niveles diferentes: la combinación de una sulfonamida (sulfametoxazol: inhibe la incorporación del GABA) con una diaminopirimidina (trimetoprim: bloqueo de la dihidrofolato reductasa) permite conseguir una acción antibacteriana a dosis mucho más bajas para cada fármaco que las requeridas para alcanzar un efecto similar con cada uno de los fármacos por separado. Esta estrategia terapéutica constituye el denominado **bloqueo secuencial**.



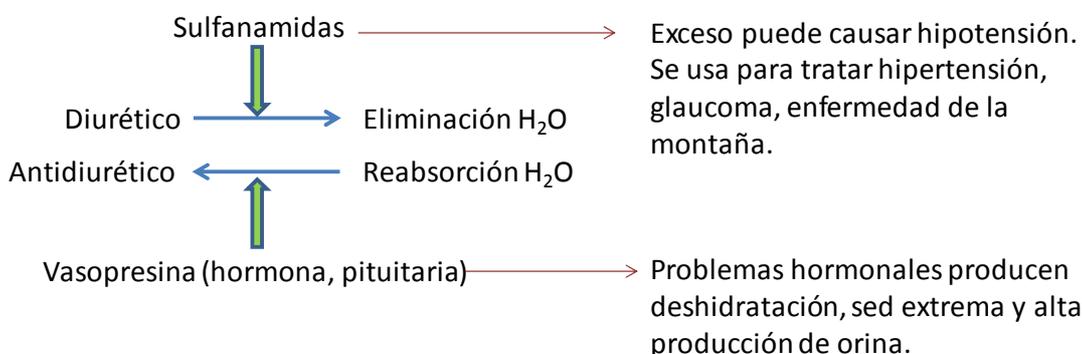
La combinación de los dos fármacos provoca una acción sinérgica que permite con un mismo efecto terapéutico a menor dosis farmacológica.

## 2. Inhibidores de la anhidrasa carbónica

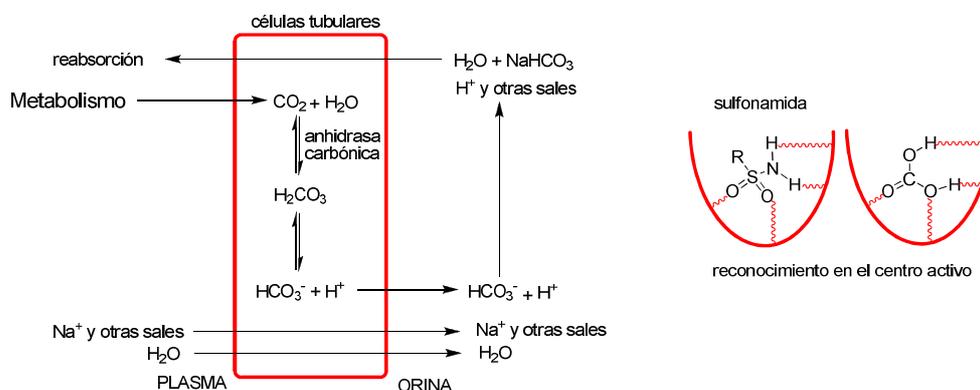
Las sulfonamidas, además de representar el inicio de la quimioterapia antibacteriana, han resultado importantes en otras áreas de la investigación farmacéutica. Desde un punto de vista farmacológico, algunas de las sulfonamidas antibacterianas presentan efectos secundarios que pueden potenciarse a través de la

farmacomodulación, lo que las convierte en cabezas de serie útiles para el desarrollo de otros grupos de fármacos. Así, se observó que las sulfonamidas producen *acidosis metabólica*<sup>4</sup> y *alcalinización de la orina*, determinándose que este efecto se debe a la inhibición de la enzima anhidrasa carbónica lo que dio lugar a un grupo de diuréticos<sup>5</sup> que actúan de este modo.

La anhidrasa carbónica es una enzima que cataliza el paso de anhídrido carbónico a ácido carbónico. La función primaria de la enzima en animales es interconvertir el dióxido de carbono y el bicarbonato para mantener el equilibrio ácido-base en la sangre y otros tejidos, y ayudar al transporte de dióxido de carbono fuera de los tejidos. La anhidrasa carbónica que se localiza en las paredes de las células del túbulo proximal del riñón tiene como misión la reabsorción de bicarbonato sódico junto con el equivalente osmótico de agua correspondiente. La observación de los efectos diuréticos de ciertas sulfonamidas se asoció a su capacidad para inhibir competitivamente la enzima anhidrasa carbónica.



#### Acción de la anhidrasa carbónica



En 1937, se propuso que la acidificación normal de la orina fue causado por la secreción de iones de hidrógeno por las células tubulares del riñón. Estos iones se forman por la acción de la enzima anhidrasa carbónica, que cataliza la formación de ácido carbónico (H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) a partir de dióxido de carbono y agua. También se observó que la sulfanilamidas producían al alcalinización de la orina de perros alcalina debido a

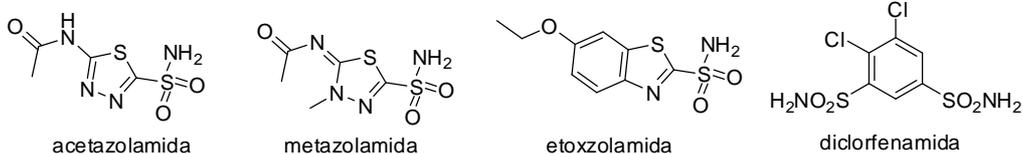
<sup>4</sup> La acidosis metabólica ocurre cuando el cuerpo produce demasiado ácido o cuando los riñones no están eliminando suficiente ácido del cuerpo.

<sup>5</sup> Se denomina diurético a toda sustancia que al ser ingerida provoca una eliminación de agua y electrolitos en el organismo, a través de la orina o del excremento en forma de diarrea. Fuente: Wikipedia.

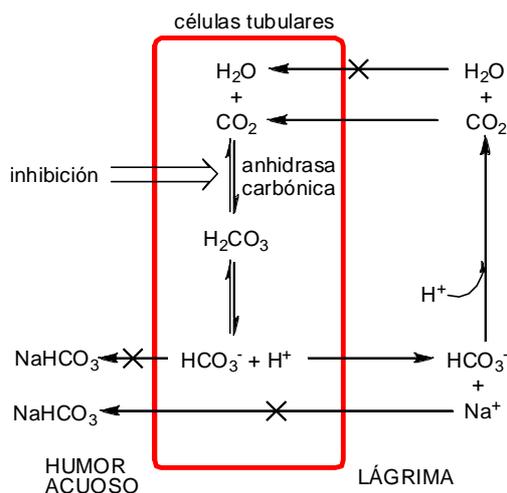
la inhibición de la anhidrasa carbónica. Esta inhibición de la anhidrasa carbónica como resultado en un menor intercambio de iones de hidrógeno para los iones de sodio en el túbulo renal. Los iones de sodio, junto con iones de bicarbonato, y las moléculas de agua asociadas son excretadas, y no observándose el efecto diurético. Las grandes dosis necesarias y los efectos secundarios de sulfanilamidas impulsaron la búsqueda de la anhidrasa carbónica más eficaces inhibidores como los diuréticos. Pronto se descubrió que la porción de una molécula de sulfonamida diuréticos activa no debía ser monosustituida o disustituida. Se razonó que una sulfonamida más ácida vincularía más estrechamente a la enzima anhidrasa carbónica. Síntesis de sulfonamidas más ácidas produjo más un efecto 2500 veces más activo que las sulfanilamidas. La acetazolamida se introdujo en 1953 como un medicamento diurético de vía oral. Antes de ese momento, los mercuriales orgánicos, que comúnmente requieren de una inyección intramuscular, eran los principales diuréticos disponibles.

Inhibidores de la anhidrasa carbónica inducen la diuresis mediante la inhibición de la formación de ácido carbónico dentro de las células del túbulo distal y proximal por limitar el número de iones de hidrógeno disponible para promover la reabsorción de sodio. Para observar una respuesta diurética, más del 99 % de la anhidrasa carbónica debe ser inhibida.

La acción inhibidora se refuerza en las sulfonamidas primarias dada su analogía estructural con el ácido carbónico, el sustrato natural de la enzima. Ello permite postular una interacción similar con el centro activo de la enzima para ambos tipos de compuestos. Por otra parte, es fundamental que la sulfonamida primaria sea relativamente ácida (similar al ácido carbónico). Ello se consigue con la introducción de sistemas aromáticos atrayentes de electrones, como el de 1,3,4-tiadiazol, presente en diversas sulfonamidas diuréticas como la acetazolamida, el primer fármaco de este grupo.

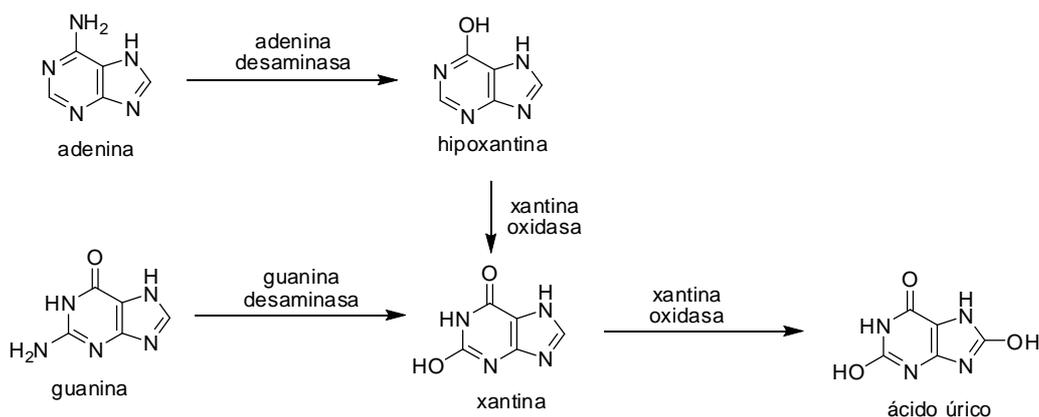


La anhidrasa carbónica también se encuentra en otros tejidos en los que su inhibición puede dar lugar a efectos terapéuticos útiles. Así dado que participa en la formación del humor acuoso, los inhibidores de la anhidrasa carbónica darán lugar a una disminución en la recaptación de bicarbonato sódico y de agua desde la lágrima hacia el humor acuoso, lo que encuentra utilidad en el tratamiento del glaucoma ya que reduce la presión intraocular.

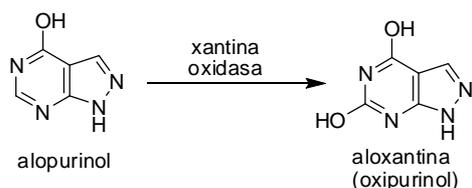


### 3. Inhibidores del metabolismo del ácido úrico

El ácido úrico es el producto metabólico de las purinas resultantes de la oxidación de las xantinas por la enzima xantina oxidasa.



Los niveles elevados de ácido úrico en plasma pueden dar lugar a su cristalización en las articulaciones, lo que origina los trastornos inflamatorios característicos de la gota. Los inhibidores de la xantina oxidasa suelen emplearse para el tratamiento de esta enfermedad. El alopurinol es un inhibidor de la xantina oxidasa diseñado inicialmente como antimetabolito de las bases púricas con potencial utilidad como antineoplásico. Dado que el alopurinol es un inhibidor reversible y selectivo de la enzima xantina oxidasa, es capaz de disminuir la concentración de ácido úrico en plasma, lo que justifica su empleo como antigotoso. El alopurinol es también sustrato de la xantina oxidasa, que cataliza su oxidación a aloxantina (oxipurinol).

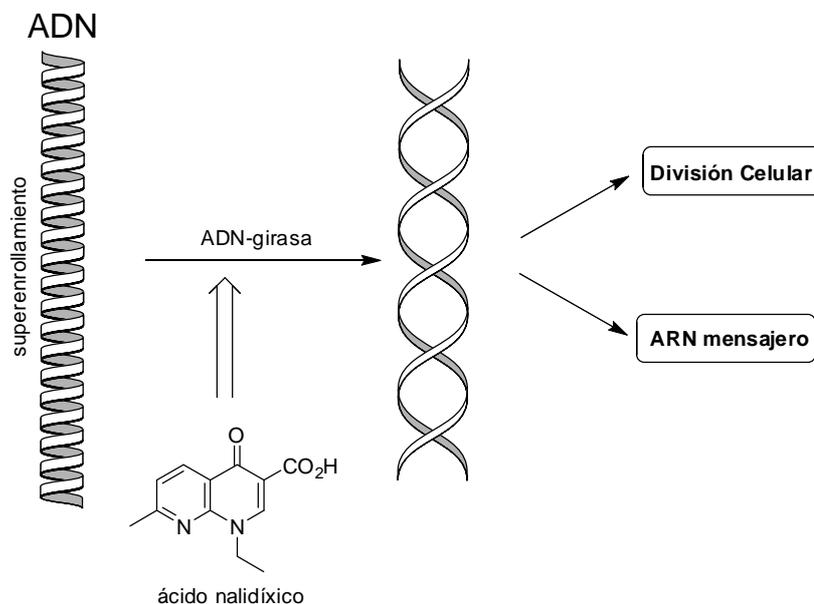


La inhibición de la xantina oxidasa da lugar a un aumento de los niveles plasmáticos de hipoxantina y xantina. No obstante dada su elevada solubilidad en agua, se eliminan rápidamente en la orina.

## 5. Inhibidores de la ADN-girasa

En este grupo se encuadran las quinolonas y las fluoroquinolonas, dos familias estructuralmente relacionadas que se emplean terapéuticamente como antibacterianos, especialmente en infecciones urinarias y en casos de resistencias frente a otros antibacterianos clásicos, como las penicilinas.

El modo de acción de las quinolonas está relacionado con su capacidad para inhibir la ADN-girasa y la topoisomerasa IV, enzimas que catalizan el llamado superenrollado del ADN cromosómico necesario para el establecimiento de la estructura terciaria precisa para la compactación del contenido genético, la transcripción, replicación y reparación del mismo. Como consecuencia de esta inhibición, la replicación y la transcripción del ADN bacteriano queda interrumpida, conduciendo a la muerte celular.

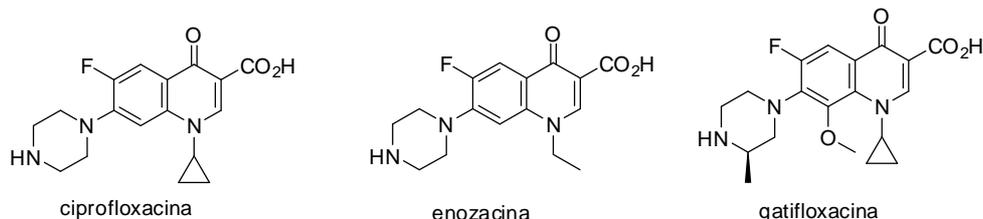


Las células humanas utilizan una enzima análoga, la topoisomerasa I, que sin embargo no es inhibida por las quinolonas de tal forma que no provoca la muerte de las células hospedadoras.

Uno de los primeros antibacterianos de esta familia fue el ácido nalidíxico, seguido, poco después, por el ácido oxonílico. Estas quinolonas llamadas de primera generación se absorben bien por vía oral y se unen eficientemente a las proteínas del suero sanguíneo. Esto permite un tiempo de vida largo pero las hace útil en zonas libres de

proteínas como el tracto urinario. Presentan baja potencia y altas dosis producen molestias gastrointestinales, salpullidos, y alteraciones visuales.

Aunque se han sintetizado gran cantidad de análogos del ácido nalidíxico, hasta que se introdujo un átomo de flúor en posición 6 y un resto de piperazina en posición 7 no se obtuvieron compuestos terapéuticamente más útiles, las fluoroquinolonas (quinolonas de segunda generación). La ciprofloxacina es, probablemente, el antibacteriano de más amplio espectro de que se dispone en la actualidad, con la ventaja de que la aparición de resistencias es relativamente lenta en este caso.



La segunda generación de quinolonas actualmente tiene una mayor aplicación que la primera. Sobretudo ciprofloxacina que es usada frente a infecciones respiratorias, meningitis, infecciones de oído crónicas, septicemia, enfermedades de transmisión sexual.

La toxicidad asociada a la quinolonas está relacionada con su efecto proconvulsivo, especialmente en epilepsias aunque esto se da sobretudo en la primera generación. Otros problemas del SNC son alucinaciones, insomnio, alteraciones visuales. Algunos pacientes experimentan procesos de dolor abdominal, anorexia, vómitos, diarrea. La segunda generación de quinolonas tiene en general una mayor tolerancia.

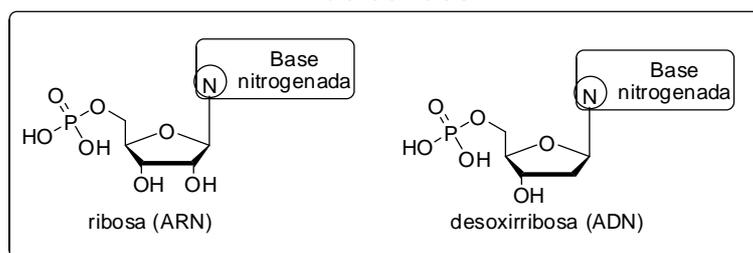
## 6. Inhibidores de la biosíntesis de pirimidinas y purinas

La biosíntesis de las pirimidinas y las purinas como hemos visto está íntimamente relacionada con la formación de los ácidos nucleicos.

Debido al papel esencial que desempeñan los ácidos nucleicos en los procesos de división celular, el diseño de inhibidores de los mismos es un tema de gran interés en el diseño de fármacos. El recurso más común es el diseño de antimetabolitos, compuestos que previenen la biosíntesis celular normal de metabolitos. La estructura de estas moléculas presenta una alta similitud con los metabolitos naturales por lo que los convierte en inhibidores competitivos.

La unidad estructural de los ácidos nucleicos son los nucleótidos, constituidos por la unión de una base nitrogenada con un azúcar (ribosa o desoxirribosa) fosforilado en la posición 5'.

## Nucleótidos



Los nucleótidos se enlazan entre sí por formación de un éster fosfórico entre el grupo fosfato de la posición 5' del resto de azúcar y el grupo hidroxilo de la posición 3' del azúcar de otro nucleótido. Esta estructura de polinucleótido constituye el esqueleto de los ácidos nucleicos. En el ADN, el apareamiento de bases nitrogenadas mediante la formación de enlaces de hidrógeno resulta esencial para la formación de la estructura secundaria.

Desde un punto de vista estructural, los antimetabolitos de los ácidos nucleicos pueden ser tanto análogos de las bases nitrogenadas como análogos de los nucleósidos. En ambos casos, se llevan a cabo modificaciones moleculares que pueden conducir a compuestos capaces de alterar el funcionamiento de los ácidos nucleicos o de bloquear determinados procesos esenciales para su duplicación lo que conduce a disfunciones celulares irreversibles.

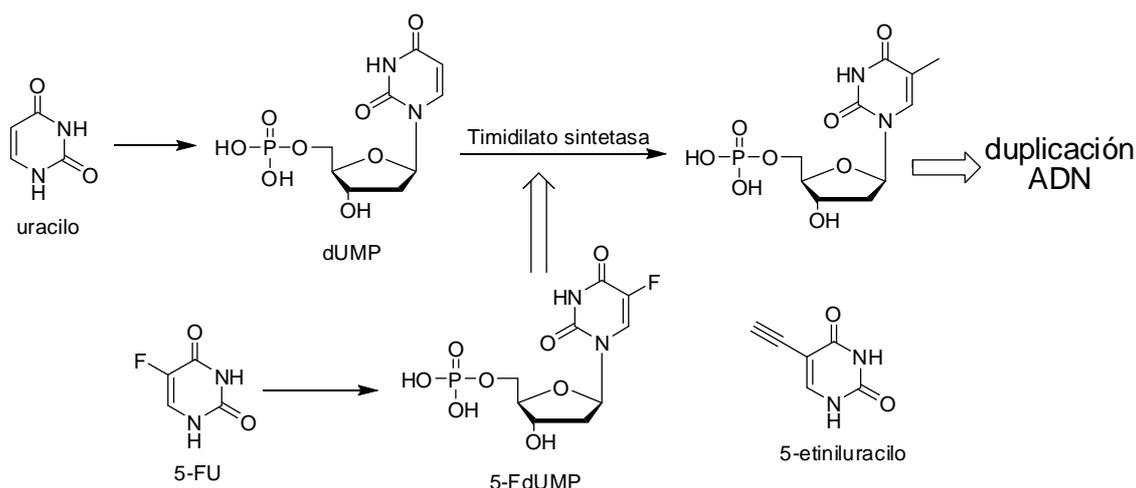
Aunque el perfil farmacológico de estos antimetabolitos suele ser complejo, la mayoría de ellos se emplean terapéuticamente como antineoplásicos o como antivíricos.

Los antimetabolitos se obtienen mediante la introducción de sustituyentes en el anillo por grupos bioisómeros o similares. En la mayoría de los casos, las bases libres no son activas y requieren su conversión *in vivo* a nucleósidos o nucleótidos. Sin embargo, la administración directa de estos últimos no es posible debido a su incapacidad para penetrar en la célula. El posible mecanismo de acción es diverso y puede involucrar:

1. inhibición de quinasas,<sup>6</sup>
2. inhibición de enzimas relacionadas con la biosíntesis de pirimidinas y purinas,
3. incorporación de los nucleótidos modificados en el ARN o ADN con la consiguiente malformación,
4. inhibición de la ADN polimerasa.

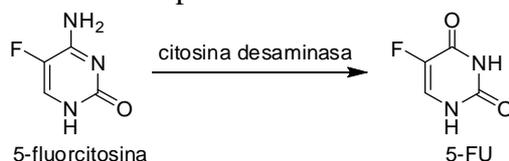
*5-Fluorouracilo* (5-FU): Procede de la sustitución bioisostérica de un átomo de hidrógeno por uno de flúor en el uracilo. El desarrollo de este compuesto se basó en la observación de que algunos tumores usaban preferentemente uracilo en la biosíntesis de pirimidinas. El 5-fluorouracilo, tras su conversión en el organismo en el ácido 5-fluorodesoxiuridílico, es un inhibidor de la enzima timidilato sintetasa, responsable de la biosíntesis del ácido timidílico a partir de la 2-desoxiuridina-5-fosfato.

<sup>6</sup> Enzimas que transfieren grupos fosfatos desde ATP a un sustrato específico o diana como el paso de nucleósido a nucleótidos.

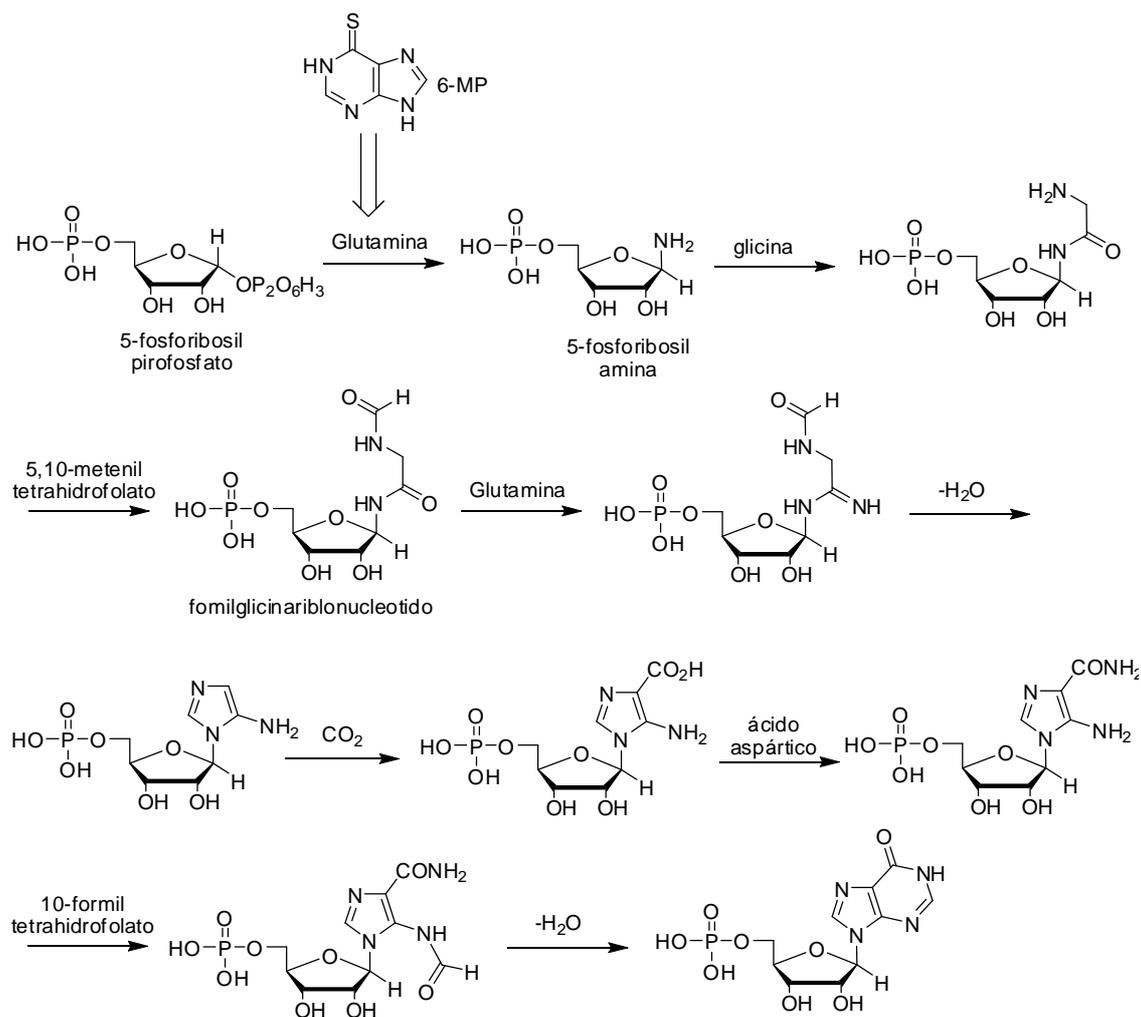


El ácido 5-fluorodesoxiuridílico presenta una afinidad por la timidilato sintetasa varios miles de veces superior a la del sustrato natural. Por otro lado, la presencia del átomo de flúor en la posición 5 imposibilita la introducción de un grupo metilo en esta posición debido a la alta energía del enlace C-F. Puesto que el ácido timidílico es uno de los componentes esenciales en la biosíntesis del ADN, el 5-fluorouracilo da lugar a la inhibición de la duplicación celular. Este compuesto se utiliza terapéuticamente como anticanceroso, especialmente en el control de los cánceres de mama, colon y recto. El átomo de flúor se ha sustituido por un grupo alquino en el antimetabolito 5-etiniluracilo con un aumento de 2 a 4 veces el efecto de inhibición.

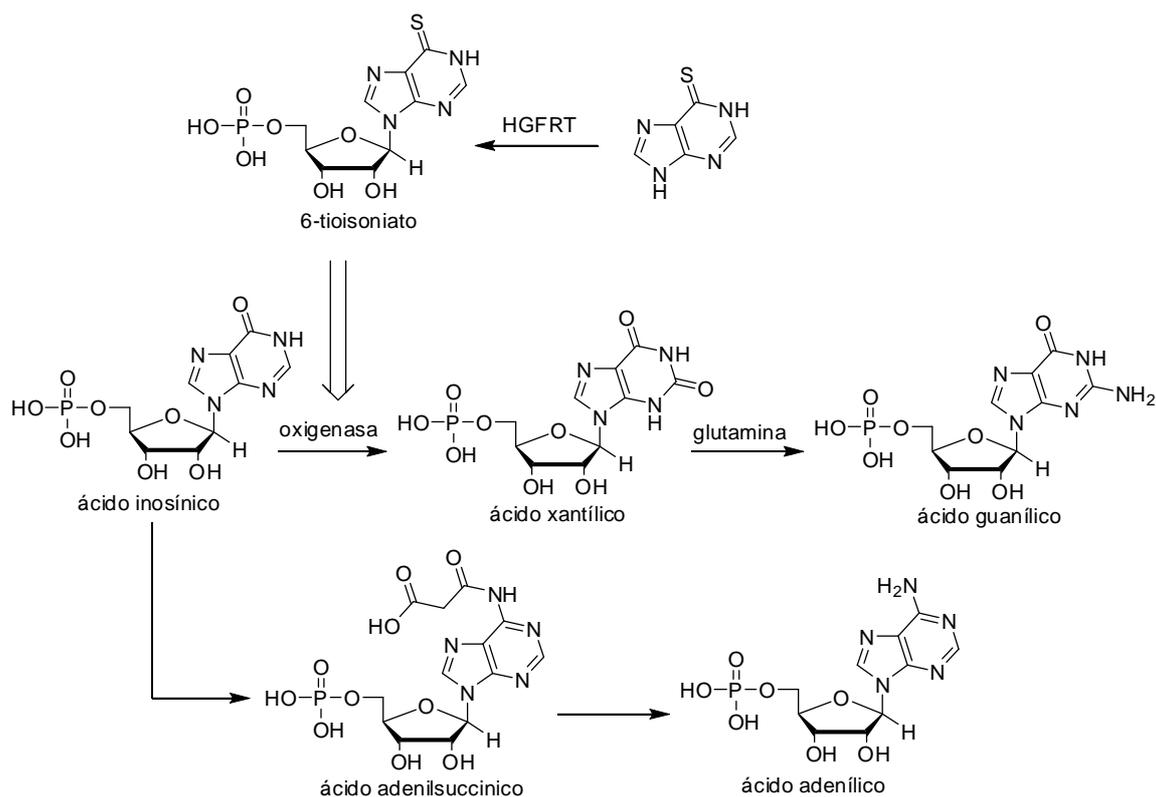
*5-Fluorocitosina*: Inicialmente se diseñó como antileucémico, aunque ha encontrado mayor aplicación como antifúngico, si bien de forma limitada. Desde un punto de vista metabólico es interesante su conversión a 5-fluorouracilo por parte la citosina desaminasa, una enzima propia de ciertos hongos que no se encuentra en las células eucariotas, lo que confiere a este compuesto una elevada selectividad frente al hongo.



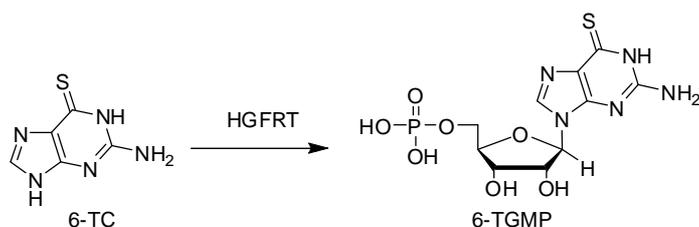
*6-Mercaptopurina* y *6-tioguanina*: Son antimetabolitos de las bases púricas, uno de los componentes esenciales del ADN.



La 6-mercaptopurina (6-MP) es un análogo de la hipoxantina, uno de los intermedios de la biosíntesis de bases púricas. Se convierte in vivo al correspondiente ribonucleótido, 6-tioinosinato por la enzima hipoxantina-guanina fosforibosiltransferasa (HGFRT). Este ribonucleótido es un potente inhibidor de la conversión de 5-fosforibosilpirofosfato en 5-fosforibosilamina dentro de la biosíntesis de purinas. También el 6-tioinosinato inhibe la conversión del ácido inosínico en ácido adenílico así como la oxidación a ácido xantílico.

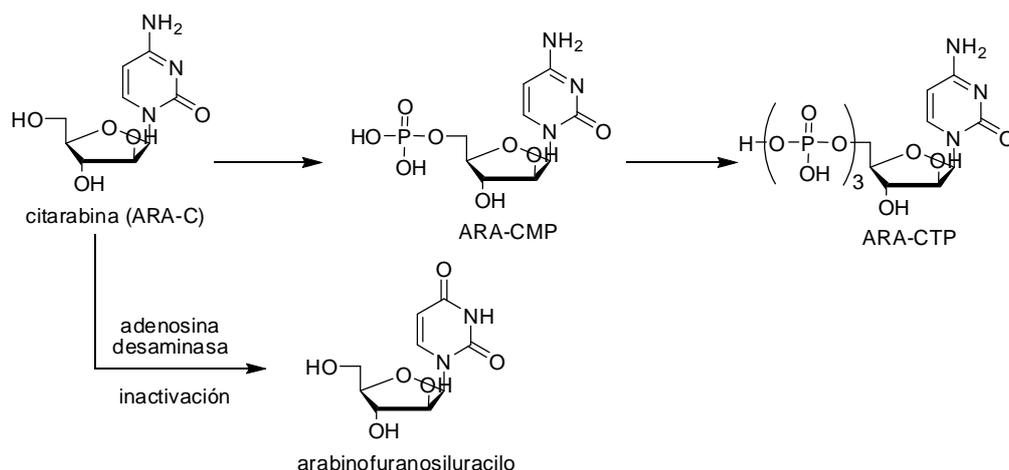


Se comporta como un antimetabolito de la hipoxantina, interrumpiendo así las vías metabólicas en las que interviene. Por otra parte, la 6-tioguanina (6-TG) se incorpora en la estructura del ADN dando lugar a alteraciones irreversibles del mismo. Esta base al igual que su metabolito ribonucleótido inhibe procesos paralelos a los descritos para 6-MP. Al mismo tiempo 6-TGMP puede incorporarse en el ARN y después de ser reducido en la posición 2' del azúcar, en el ADN. De esta forma se inhibe el proceso de replicación del ADN debido a que la enzima que cataliza el proceso no reconoce la base 6-TG.

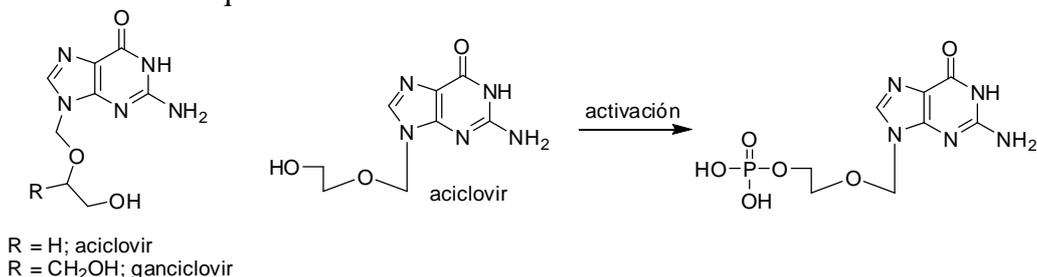


## 7. Inhibidores de polimerasas de ADN

Otro grupo de antimetabolitos que inhiben la formación de ácidos nucleicos son aquellos los análogos de nucleósidos. La citarabina es un ejemplo de antimetabolito de pirimidina en el cual se introducido una modificación en el azúcar. Se trata de un nucleósido derivado de la arabinosa, con una configuración del hidroxilo en C2' invertida. El fármaco debe ser metabolizado a su monofosfato y a su trifosfato para tener actividad como inhibidor selectivo de la ADN polimerasa vírica. Una de sus mayores limitaciones es la desactivación por desaminación metabólica mediada por la adenosina desaminasa.



El aciclovir y el ganciclovir son ejemplos de antivíricos que actúan por un mecanismo semejante. En estos compuestos la porción del azúcar se ha cambiado por un fragmento acíclico. Aciclovir es convertido al derivado di y trifosfato mediante la enzima timidina quinasa vírica. Este proceso ocurre más rápido en las células infectadas por el virus del herpes que en las células normales ya que en éstas el aciclovir es un pobre sustrato para la enzima normal timidina quinasa. El análogo trifosfato es un inhibidor competitivo de la ADN polimerasa al tiempo que se incorpora al ADN vírico generando anomalías en el código genético. En el caso de ganciclovir la fosforilación no necesita de la enzima vírica específica y su mecanismo de acción es similar. Sin embargo, es más tóxico para las células humanas que aciclovir.

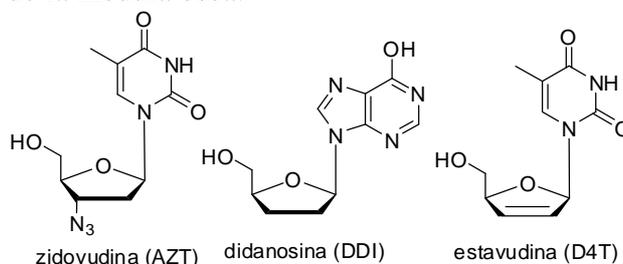


La gemcitabina (dFdC) es un nucleósido derivado de la citosina y de la 2,2-difluoro desoxirribosa. Debe ser fosforilado a la forma activa trifosfato (dFdCTP) el cual puede ser incorporado tanto al ADN como al ARN causando la muerte celular. Gemcitabina es metabolizado y eliminado principalmente como su análogo uracilo (dFdU).

## 8. Inhibidores de enzimas de transcripción de ADN

En los últimos años, el diseño de antimetabolitos de análogos de bases pirimidínicas y púricas ha alcanzado una gran relevancia en la búsqueda de nuevos fármacos eficaces como inhibidores de la duplicación del virus del SIDA (VIH-1). En la síntesis del ADN vírico se necesitan grandes cantidades de nucleósidos y nucleótidos de pirimidinas y purinas bajo el control de la *transcriptasa reversa*. Así, se han descrito numerosos análogos de nucleósidos como inhibidores de la transcriptasa reversa vírica, la enzima que cataliza la síntesis de una copia de ADN a partir del ARN vírico.

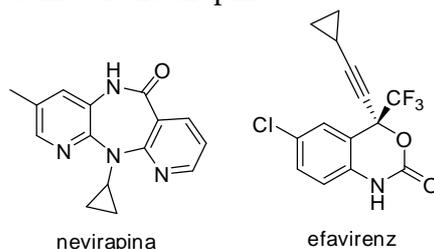
Zidovudina es un análogo de timidina con un grupo azido en anillo de dideoxiribosa. Es activo contra el ARN de los retrovirus causantes del SIDA y leucemia de las células T. La zidovudina fue el primer medicamento aprobado para el tratamiento del sida y la infección del VIH en 1987. Sin embargo este fármaco es tóxico y presenta numerosos efectos secundarios como náuseas, dolor de cabeza, cambios en la grasa corporal, y decoloración de los dedos de las manos y pies. Efectos adversos más severos incluyen anemia y supresión de la médula ósea.



La didanosina es una purina dideoxinucleótido, análogo de la inosina. Es un profármaco que es bioactivado por el metabolismo a dideoxiadenosina trifosfato. Cuando se introduce en el ADN causa la terminación de la replicación debido a que carece del hidroxilo en la posición 3' necesaria para elongar la cadena. Didanosina es metabolizada finalmente a hipoxantina, xantina y ácido úrico.

La estavudina es un análogo de nucleótido de pirimidina que presenta una significativa actividad frente a HIV-1 cuando es metabolizado a su trifosfato. Presenta una alta biodisponibilidad. Está recomendado para pacientes con infección avanzada.

La inhibición de la transcriptasa reversa, dado que representa un punto de interacción selectivo frente al virus del SIDA, ha continuado atrayendo el interés de la comunidad científica en la búsqueda de antivíricos eficaces. Se han desarrollado otros inhibidores no nucleósidos, la mayoría de estos compuestos proceden de estudios de «cribado masivo» o de métodos racionales basados en técnicas de modelización molecular. Entre ellos destacamos la nevirapina.

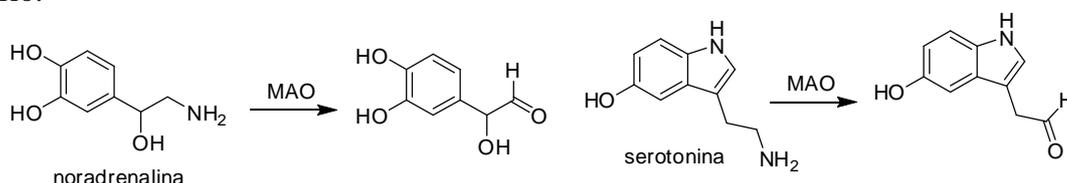


La nevirapina y sus análogos presentan efecto antiviral contra cepas resistente a AZT. Su forma de acción es diferente a los análogos de nucleótidos. La unión directa con la enzima transcriptasa reversa bloquea la actividad de la enzima polimerasa dependiente de ADN debido a la disrupción en el centro activo.

El efavirenz es un potente inhibidor de la transcriptas reversa lo que permite combinar tipos de fármacos reduciendo los efectos secundarios.

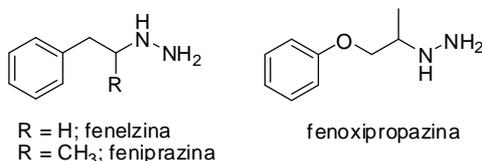
## 9. Inhibidores de las MAO

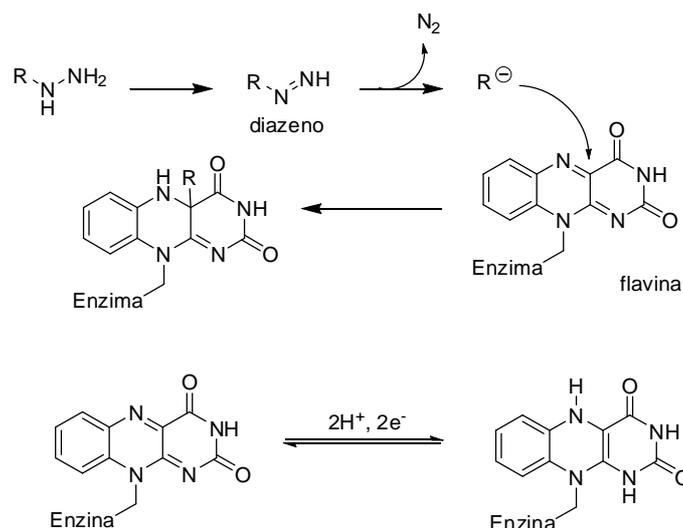
La enzima MAO, monoamino oxidasa, es un enzima de localización mitocondrial especializado en la degradación de ciertas aminas biógenas, especialmente neurotransmisores, si bien algunos xenobióticos también pueden comportarse como sustratos. La MAO es, en realidad, un grupo de isoenzimas dependientes de flavina que oxidan una amplia variedad de aminas biógenas mediante un proceso de desaminación oxidante. Las aminas primarias no ramificadas en posición  $\alpha$  son los mejores sustratos, si bien algunas aminas secundarias, fundamentalmente metilaminas, también pueden serlo.



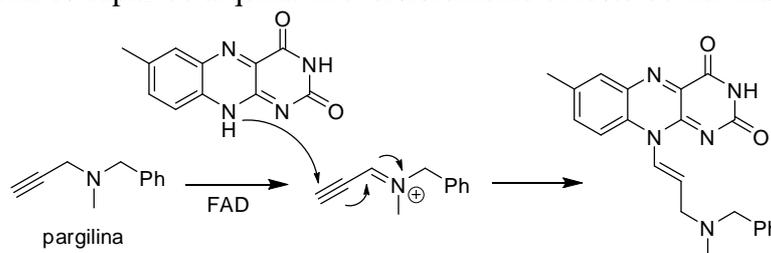
Los inhibidores de la MAO constituyeron uno de los primeros grupos de fármacos con utilidad como antidepresivos. Las MAO muestran selectividad por las aminas primarias no sustituidas en posición  $\alpha$  respecto al átomo de nitrógeno. El mecanismo de la oxidación implica la abstracción de un hidruro de la posición  $\alpha$  del sustrato por parte de la flavina para dar una sal de iminio que por hidrólisis, conduce al correspondiente aldehído.

Los primeros inhibidores conocidos de la MAO fueron de tipo irreversible y no selectivo frente a las distintas isoenzimas. Entre ellas se encuentran las hidrazinas. Su hidrólisis metabólica para liberar la correspondiente hidrazino genera un inhibidor irreversible de la enzima. La inhibición de la MAO por este tipo de compuestos puede considerarse de tipo «suicida» ya que la especie que inactiva el resto de flavina procede de la descomposición de un diazeno resultante del proceso inicial de oxidación por parte de la propia enzima.



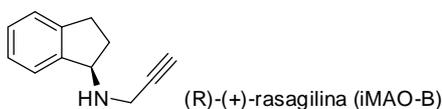
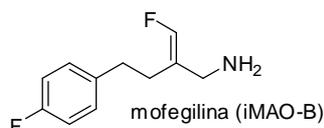
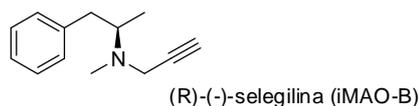
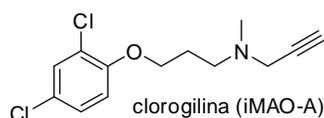


Otro tipo de inhibidores irreversibles no selectivos es el representado por la pargilina, prototipo de las 2-propinilaminas o propargilaminas, cuyo mecanismo de inhibición es también de tipo suicida. Análogamente al caso anterior, la especie resultante de la oxidación inicial es capaz de alquilar irreversiblemente el resto de flavina.



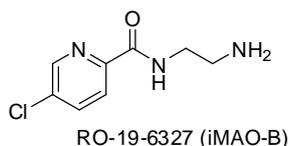
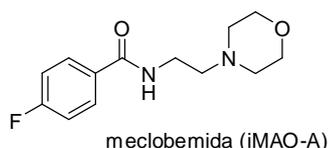
La falta de selectividad de los compuestos indicados ha limitado su uso terapéutico, debido a la gran cantidad de efectos secundarios derivados del aumento indiscriminado de los niveles de diversas aminas biógenas especialmente la tiramina (2-p-hidroxifeniletilamina), abundante en numerosos alimentos y cuyos efectos presores resultantes de su acumulación por inhibición de las iMAO pueden resultar peligrosos.

El conocimiento de las diversas isoenzimas que se engloban bajo el término genético de MAO, en especial la MAO-A y la MAO-B, con distinta localización y selectividad frente a las diversas aminas biógenas, así como la posibilidad de diseñar fármacos selectivos sobre cada uno de estas isoenzimas, abrió nuevas perspectivas sobre el potencial terapéutico de este tipo de compuestos. Así, puesto que la MAO-A muestra selectividad por la serotonina y la noradrenalina, los inhibidores selectivos de la MAO-A serán útiles como antidepresivos. Pertenecen a este grupo los fármacos obtenidos a partir de la modificación de la pargilina. Al igual que esta, son inhibidores latentes que dan lugar a la alquilación irreversible del resto de flavina de la enzima (inhibición suicida). La clorogilina se emplea preferentemente como antidepresivo por ser un inhibidor selectivo de la MAO-A.



Por otra parte, dada la selectividad de la MAO-B frente a la dopamina los inhibidores selectivos serán útiles como antiparkinsonianos sin efectos sobre el metabolismo de la tiramina. La (R)-(-)-selegilina, la (R)-(+)-rasagilina, un análogo cíclico de la anterior y la mofegilina, cuyo mecanismo de inhibición es semejante al del resto de las propargilaminas, son inhibidores selectivos de la MAO-B con utilidad en el tratamiento de la enfermedad de Parkinson.

El desarrollo de inhibidores reversibles selectivos ha abierto nuevas perspectivas en el desarrollo de fármacos antidepresivos (MAO-A) y antiparkinsonianos (MAO-B), por disminuir de forma importante los efectos secundarios derivados de la inhibición no selectiva característica de los MAO clásicos. La meclobemida (MAO-A) es el primer representante de esta nueva generación de inhibidores reversibles selectivos. Por variaciones en el anillo aromático se ha diseñado el MAO-B reversible RO-19-6327, que se encuentra en fase avanzada de desarrollo. En este grupo de inhibidores, la cadena de 2-aminoetilamida resulta fundamental para la actividad.



## 10. Inhibidores de la COMT

La catecol-O-metiltransferasa (COMT) es una de las varias enzimas que degradan los neurotransmisores basados en catecolaminas como la dopamina, epinefrina y norepinefrina. El diseño de inhibidores selectivos de la COMT ha permitido la introducción de nuevos fármacos con utilidad en el tratamiento de la enfermedad de Parkinson.

Recientemente, se han desarrollado algunos derivados catecólicos como inhibidores selectivos de esta enzima. Dos fármacos de reciente introducción en este campo son la tolcapona y la entacapona.

### *Bibliografía utilizada*

- 1) Principles of Medicinal Chemistry, D. A. Williams, T. L. Lemke, Ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2002. ISBN: 0-683-30737-1.
- 2) Introducción a la Química Terapéutica, A. Delgado Cirilo, C. Minguillón Llombart, J. Joglar Tamargo, Ed. Díaz de Santos, 2004. ISBN: 84-7978-601-9.
- 3) Introducción a la Síntesis de Fármacos, A. Delgado, C. Minguillón, J. Joglar, Ed. Síntesis, 2002. ISBN: 84-9756-029-9.
- 4) An introduction to Medicinal Chemistry, G. L. Patrick, Ed. Oxford, 2001. ISBN: 0-19-850533-7.