

NUCLEOTIDOS

-Composición

-Bases nitrogenadas

- 1.-bases púricas
- 2.-bases pirimidínicas

-Otras bases

- 1.-bases modificadas
 - a) mutilaciones
 - b) isopentenil derivados
 - c) tioderivados
- 2.-productos naturales
- 3.-análogos sintéticos de bases

-Propiedades químicas de las bases

- 1.-carácter débilmente básico
- 2.-baja solubilidad
- 3.-formas tautoméricas
- 4.-absorción en el UV
- 5.-reacciones químicas
 - a) desaminación
 - b) alquilación

-Nucleósidos

Estructura

Nomenclatura

Propiedades químicas

Otros nucleósidos

-Nucleótidos

Generalidades y nomenclatura

Propiedades químicas

Funciones biológicas

- 1.-depósito de energía libre
- 2.-activación de substratos
- 3.-forman parte de algunos coenzimas
- 4.-algunos son segundos mensajeros
- 5.-sillares de los ac nucleicos

Metabolismo

PURINAS

- 1.-Síntesis de nucleótidos purínicos. Síntesis de "NOVO"
 - a) formación de IMP
 - b) síntesis de AMP y GMP, a partir de IMP
 - c) regulación de la síntesis de purinas
- 2.-Vía de recuperación de purinas

PIRIMIDINAS

- 1.- Síntesis de nucleótidos pirimidínicos. Síntesis de “NOVO”
 - a) síntesis de carbamoil fosfato
 - b) síntesis de orotato y UMP
 - c) síntesis de UTP y CTP a partir de UMP
 - d) regulación de la síntesis de nucleótidos pirimidínicos
- 2.- Vía de recuperación de pirimidinas

Síntesis de desoxirribonucleótidos

- 1.- Síntesis de desoxirribonucleótidos difosfato (dNDPs): **Ribonucleótido reductasa**
 - a) estructura
 - b) formación de un radical libre
 - c) mecanismo de reducción
 - d) fuente de electrones para la reducción
 - e) regulación de la actividad catalítica
- 2.- Síntesis de desoxirribonucleótidos trifosfato (dNTPs)

Síntesis de timina: vías de “novo” y de recuperación

Metabolismo de los nucleótidos de desoxiuridina

- a) timidina quinasa
- b) dUTPasa
- c) timidilato sintasa
 - 1) estructura
 - 2) mecanismo catalítico
 - 3) regeneración del N⁵,N¹⁰ metilen-THF

Vías de recuperación de los desoxirribonucleótidos

- a) síntesis de novo
- b) vía de recuperación

Catabolismo de nucleótidos

- a) catabolismo de purinas
 - 1.- el ciclo de los nucleótidos purínicos
 - 2.- mecanismo catalítico de la xantina oxidasa
 - 3.- destino del ac. Úrico
- b) catabolismo de pirimidinas

NUCLEÓTIDOS

COMPOSICION

1.- **La Hidrólisis completa** de los ac. nucléicos da lugar a una mezcla equimolar de:

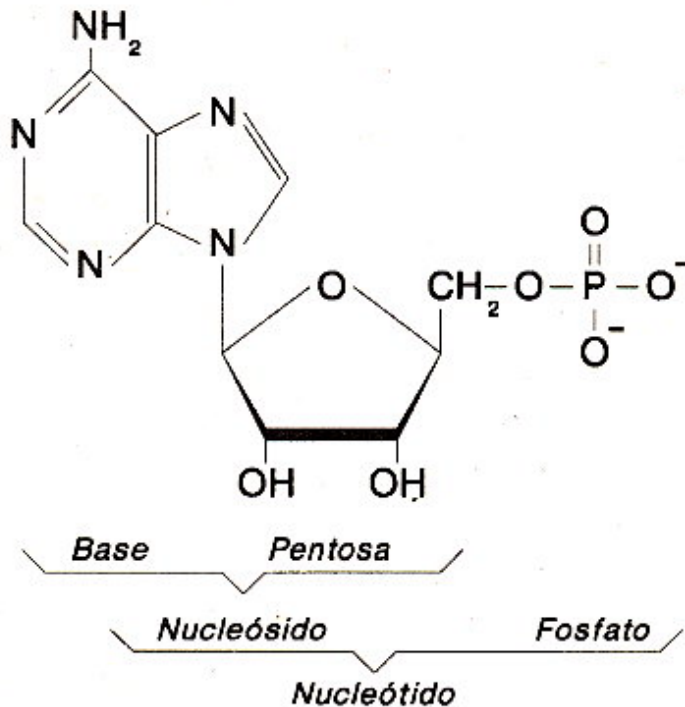
- a) base nitrogenada heterocíclica (purina o pirimidina)
- b) pentosa (D-ribose o 2-D-desoxirribosa)
- c) ortofosfato

2.- **La Hidrólisis suave** de los ac. nucléicos (enzimática, nucleasas) da lugar a una mezcla de nucleótidos.

Nucleótidos + nucleotidasas da: a) ortofosfato
b) nucleósido

nucleósido + nucleosidasas da: a) pentosa
b) base nitrogenada heterocíclica

Ejemplo:



BASES NITROGENADAS

DESCRIPCION

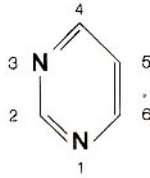
Bases nitrogenadas heterocíclicas que pertenecen a dos tipos fundamentales:

- 1.- purinas
- 2.- pirimidinas

ejemplo:

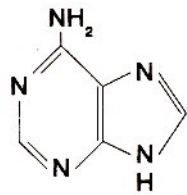


Purina

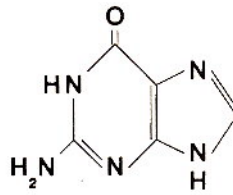


Pirimidina

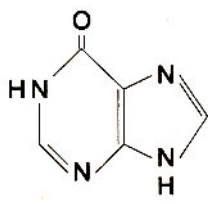
1.- **Bases púricas:** Adenina, Guanina (DNA y RNA) Hipoxantina, Xantina y ac. Úrico (metabolismo).



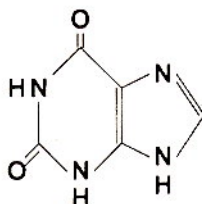
Adenina
(6-aminopurina)



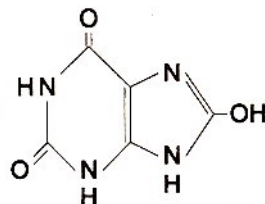
Guanina
(2-amino 6-oxopurina)



Hipoxantina
(6-oxopurina)

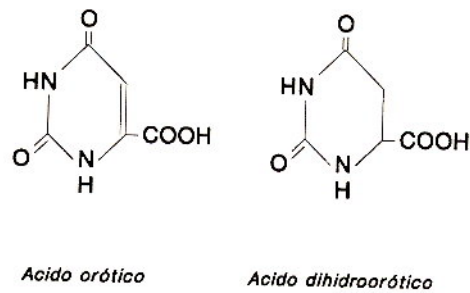
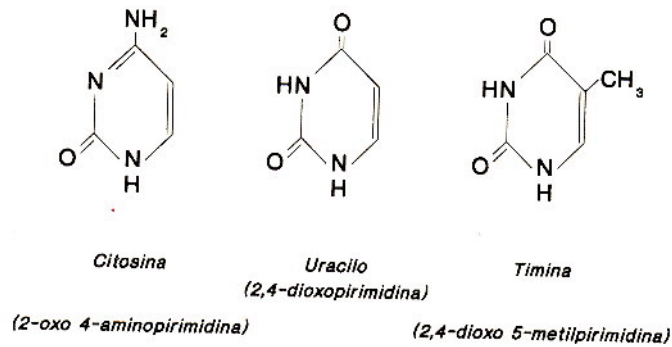


Xantina
(2,6-dioxopurina)



Acido úrico
(2,6,8-trioxopurina)

2.- **Bases pirimidínicas:** Citosina (DNA y RNA), Timina (DNA) Uracilo (RNA); además ac. Orótico y dihidroorótico (metabolismo).



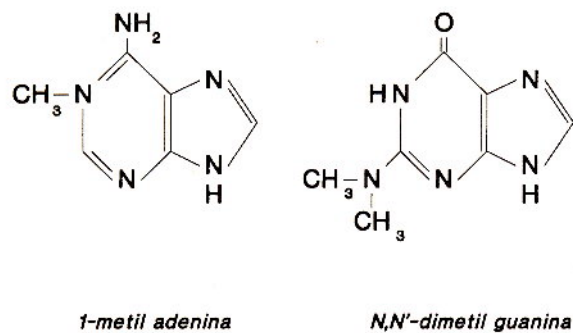
Abreviaturas

ADENINA	(A)	CITOSINA	(C)
GUANINA	(G)	URACILO	(U)
HIPOXANTINA	(I)	TIMINA	(T)

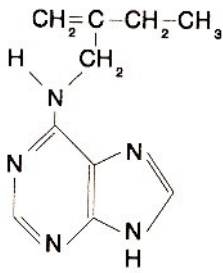
OTRAS BASES

1.- **Bases modificadas** se encuentran preferentemente en el RNA y particularmente en el tRNA.

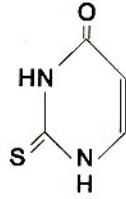
a) metilaciones; metiladas o dimetiladas



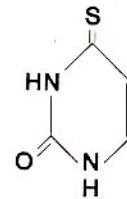
- b) Isopentenil derivados
 c) Tioderivados; sobre todo en las pirimidinas



N-isopentenil adenina

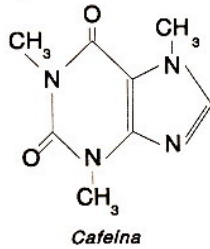


2-thiouracilo

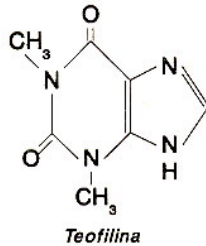


4-thiouracilo

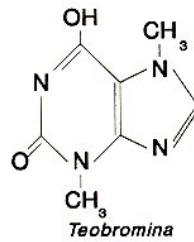
2.- Productos naturales: grupo importante con estructura de base púrica son las metilxantinas; cuya acción farmacológica más importante es la de inhibir la fosfodiesterasa de cAMP prolongando la acción de este segundo mensajero hormonal.



Caffeina

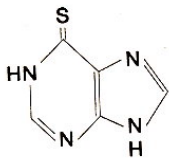


Teofilina

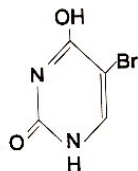


Teobromina

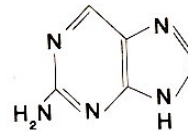
3.-Análogos sintéticos de bases; que se emplean como agentes antineoplásicos que actúan por mecanismos de competitividad, o bien como agentes mutagénicos.



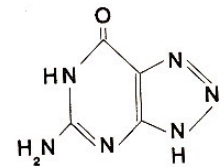
6-mercaptapurina



5-bromouracilo



2-aminopurina



8-azaguanina

PROPIEDADES QUIMICAS DE LAS BASES

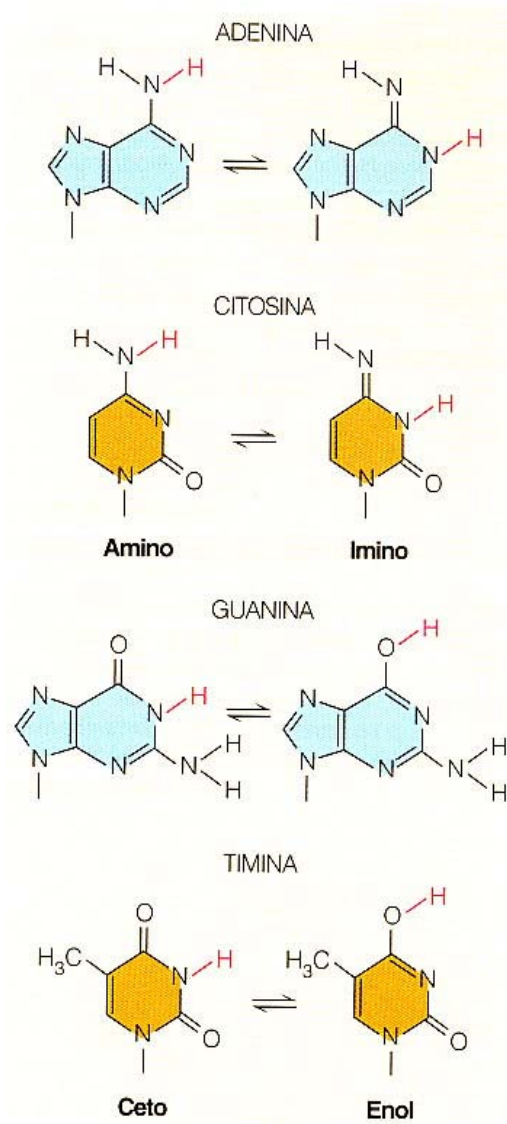
1.- **Carácter debilmente básico**; a pH intracelular los grupos básicos aparecen mayoritariamente en forma desprotonada, por lo que carecen de carga eléctrica significativa.

pK_a de algunas bases nitrogenadas

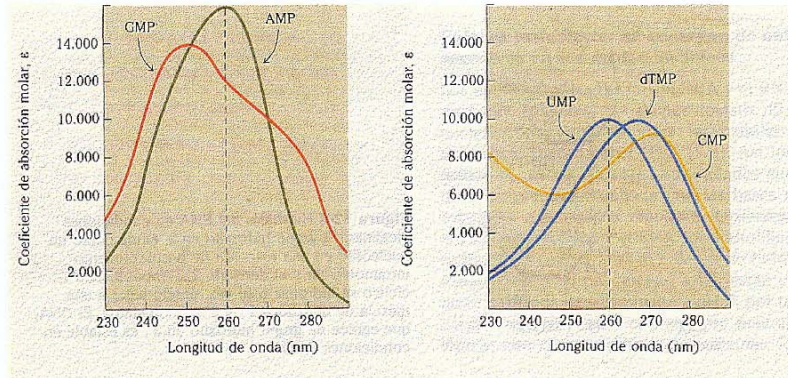
Base	grupo	pK _a
Uracilo	N ¹	9.5
Timina	N ¹	9.9
Guanina	N ¹	9.5
Guanina	N ⁷	3.2
Citosina	N ³	4.5
Adenina	N ¹	4.2

2.- **Poco solubles en agua**

3.- **Presentan tautomeria** (isomería ceto-enol o aldimino-cetimino)

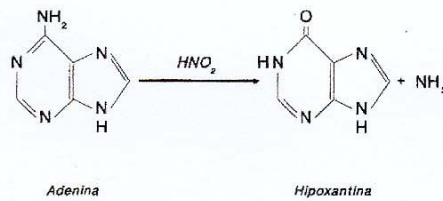


4.-Presentan un espectro de absorción característico, con máximos de absorción diferentes según las bases, pero centrados todos ellos en torno a los 260 nm.

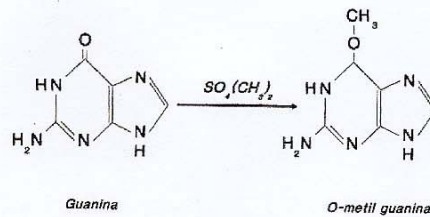


5.-Reacciones químicas de las bases

a) **Desaminación** . Por ejemplo inducidas por el ac. nitroso ó hidroxilamina (citosina) adenina, guanina y citosina **desaminación** oxo-derivados hipoxantina, xantina y uraci



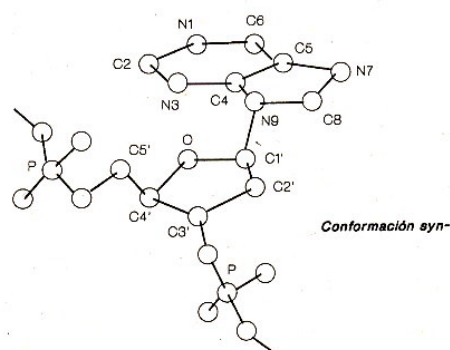
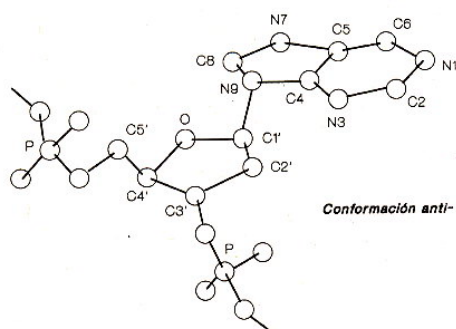
b) **Alquilación** . Agentes alquilantes : sulfato de dimetilo, que produce o-metil guanina, otros agentes son dimetil nitrosamina y la mostaza nitrogenada



LOS NUCLEOSIDOS

Estructura

- Base nitrogenada + pentosa ----- N-glicósido (Nucleósido)
- Enlaces en beta entre: C1 de la pentosa y N1 de las pirimidinas ó el N9 de las purinas.
- La pentosa es invariablemente en forma furanósica y la conformación del enlace glicosídico puede ser tanto syn- como anti- (se refiere a la situación relativa de los anillos de base y pentosa; siendo syn- del mismo lado y anti del lado contrario).

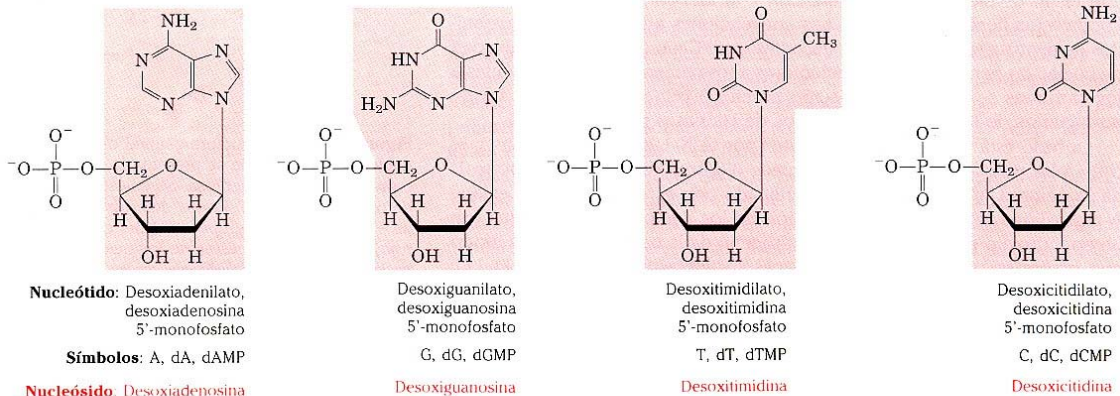
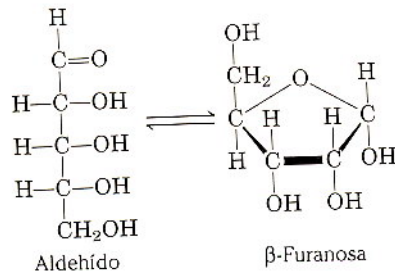


NOMENCLATURA

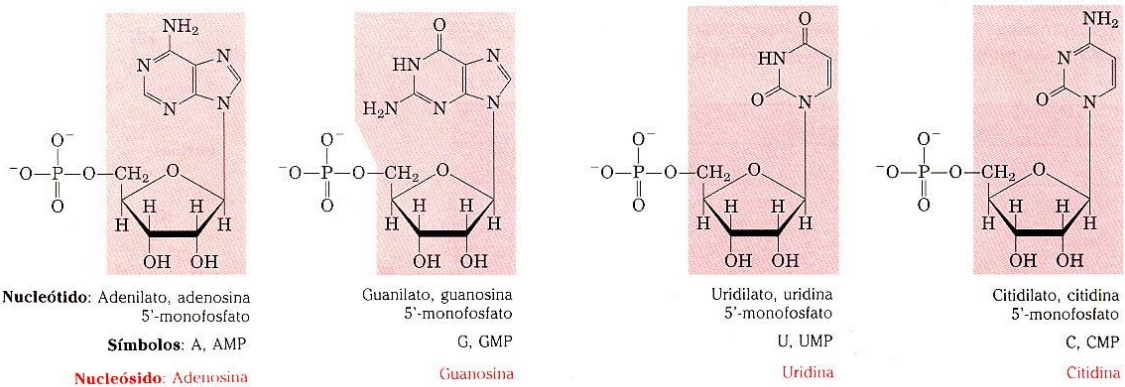
- 1- Purinas – nombre del radical de la base + sufijo -osina
- 2- Pirimidinas - nombre del radical de la base + sufijo -idina
- 3- Para la 2-D-desoxirribosa se antepone el prefijo desoxi + nombre del ribonucleósido
- 4- Los carbonos de la pentosa se numeran como 1', 2', 3', 4' y 5' para distinguirlos de los átomos de la base

Nomenclatura de nucleósidos

Base	Ribonucleósido	Desoxirribonucleósido
Adenina	Adenosina	Desoxiadenosina
Guanina	Guanosina	Desoxiguanosina
Hipoxantina	Inosina	Desoxiinosina
Citosina	Citidina	Desoxicitidina
Uracilo	Uridina	Desoxiuridina
Timina	Ribotimidina	Timidina



(a)

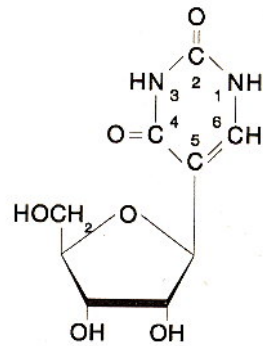


Propiedades químicas

- 1.- **Aumento de la solubilidad** con respecto a las bases.
- 2.- **La presencia de la pentosa permite la cuantificación** de los nucleósidos basados en reacciones de deshidratación del anillo furanósico. Así, los ribósidos pueden ser cuantificados por la reacción del orcinol; y los desoxirribósidos por la reacción de la difenilamina. Estas reacciones son aplicables también a los nucleótidos y a los ac. nucléicos.
- 3.- La estructura de nucleósido no modifica para nada las características de **absorción de luz ultravioleta a 260 nm** propias de las bases nitrogenadas.

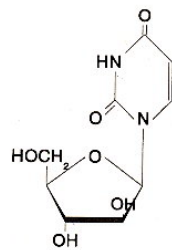
Otros nucleósidos

1.- Nucleósidos anormales en ac. nucleicos normales. Por ejemplo la pseudouridina (tRNA)

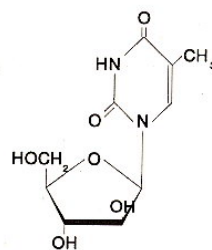


Pseudouridina

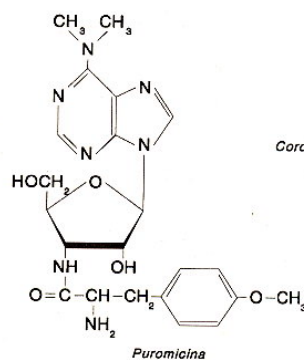
2.- nucleósidos naturales. Por ejemplo la espongouridina y la espongotimidina presentes en las esponjas donde la pentosa es arabinosa. Así mismo, los antibióticos cordicepina y puromicina.



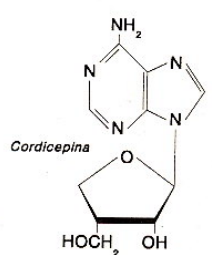
Spongouridina



Spongotimidina



Puromicina



Cordicepina

3.- En terapéutica antineoplásica también se utilizan multitud de análogos estructurales de nucleósidos. Por ejemplo el citosin arabinósido.

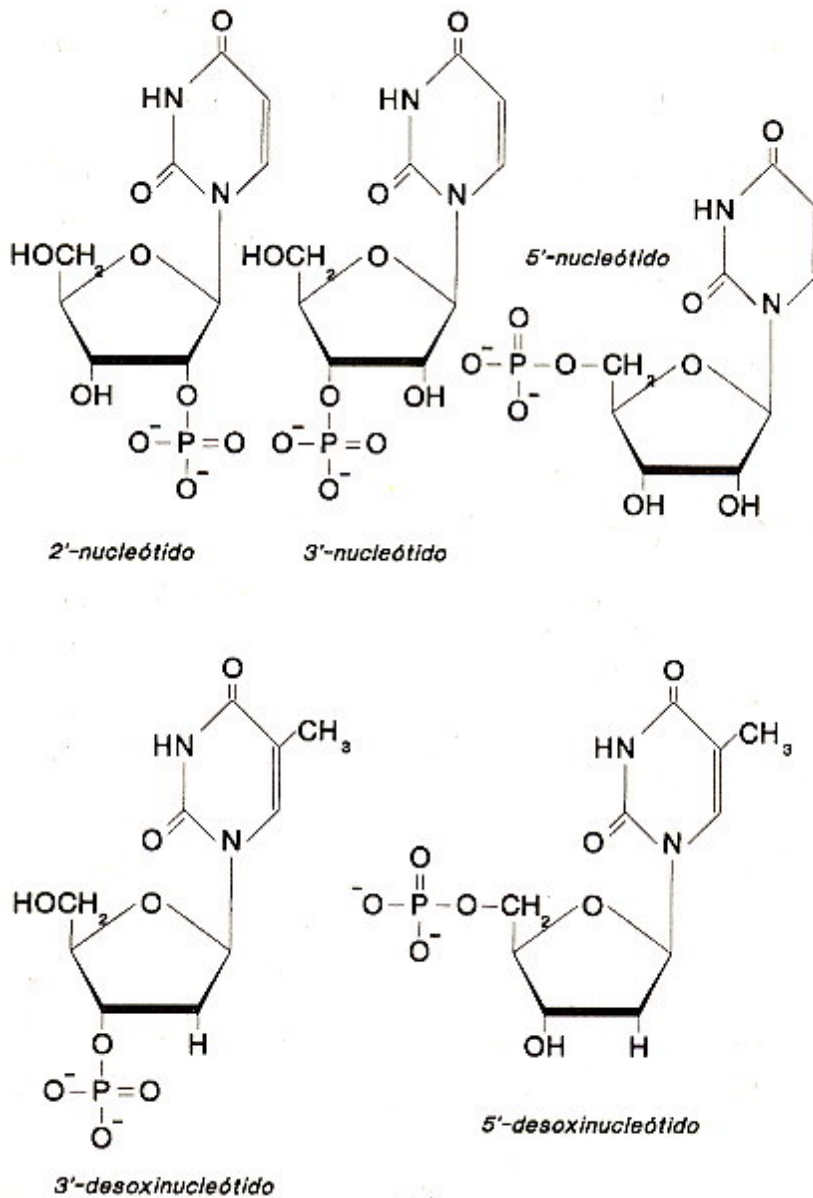
NUCLEÓTIDOS

Generalidades y nomenclatura

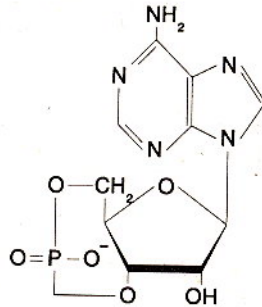
1.- La esterificación de grupos $-OH$ presentes en la pentosa de un nucleósido con ortofosfato, pirofosfato o polifosfatos da lugar a las estructuras llamadas nucleótidos.

Los ribósidos : tienen tres posibilidades; los carbonos 2', 3' y 5' dando lugar a 2', 3', y 5' nucleótidos respectivamente.

Los desoxirribósidos : tienen dos posibilidades; los carbonos 3' y 5' dando lugar a los 3' y 5' desoxirribonucleótidos.



En ocasiones, el mismo grupo fosfato aparece esterificando a dos carbonos distintos en la misma pentosa de un nucleósido se forman así los nucleótidos cíclicos.



3',5' adenosin monofosfato cíclico (cAMP)

El nombre sistemático de los nucleótidos se forma con el nombre del nucleósido seguido del carbono esterificado a fosfato y terminado en –monofosfato, –difosfato o –trifosfato en su caso. **Abreviaturas:** (1) el número del carbono esterificado por fosfato (2) la letra de la base y (3) el número de fosfatos que esterifican. Por ejemplo 5'-AMP, 5'-ADP y 5'-ATP. Para los desoxi se antepone a la abreviatura una “d” minúscula por ej. 5'-dAMP.

Existe así mismo una nomenclatura especial para los 5'-ribonucleósidos monofosfato, consistente en añadir el sufijo ílico al nombre radical de la base, en el caso de las purinas, o del nucleósido en las pirimidinas. Así, ac adenílico 5'-AMP, ac guanílico es el 5'-GMP, ac citidílico 5'-CMP, ac uridílico 5'-UMP etc.

Propiedades químicas

1.- Todos poseen un fuerte carácter ácido a pH fisiológico presentando carga negativa

Constantes de ionización de los ribonucleótidos expresadas en forma de valores de pK_a						
Fosfato				Base		
Ionización primaria		Ionización secundaria				
$\text{HO}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{P}}-\text{R} \rightleftharpoons \text{HO}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{P}}(\text{O}^-)-\text{R}$		$\text{HO}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{P}}(\text{O}^-)-\text{R} \rightleftharpoons \text{O}^--\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{P}}(\text{O}^-)-\text{R}$				
	pK_{a1}	+ H^+		pK_{a2}	+ H^+	pK_a
5' AMP	0.9			6.1		3.8
5' GMP	0.7			6.1		2.4
5' UMP	1.0			6.4		9.4
5' CMP	0.8			6.3		9.5
						4.5
						Reacción (en forma de pérdida de la forma protonada)
						N-1
						N-7
						N-1
						N-3
						N-3

2.- Presentan un máximo de absorbancia en torno a los 260 nm debido a la base nitrogenada.

3.- La presencia de fosfato incrementa aún más la solubilidad respecto a los nucleósidos.

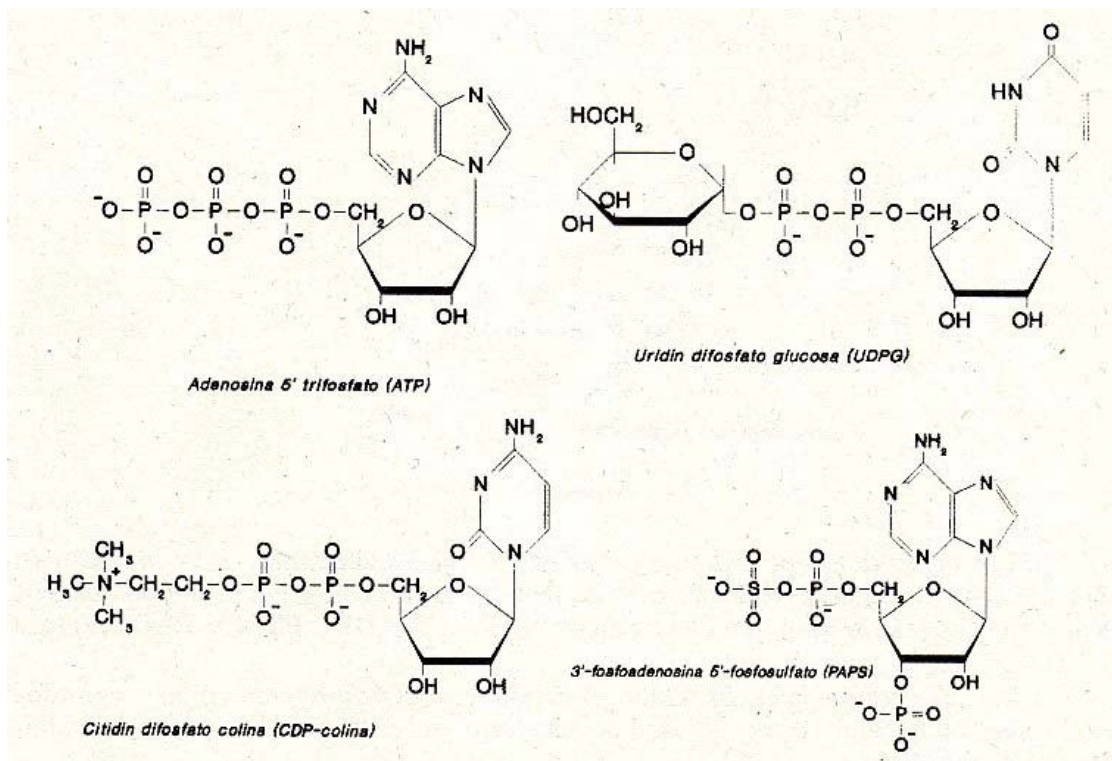
4.- Los nucleótidos se separan fácilmente por procedimientos cromatográficos.

Funciones biológicas

1.- Depósitos de energía libre. Ejemplo ATP

2.- La **unión covalente de sustratos a nucleótidos** representa en muchas ocasiones las formas metabólicamente activas de aquéllos. Ejemplos:

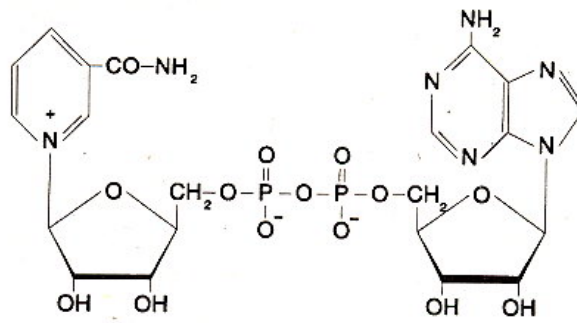
síntesis de glucógeno	precursor	Uridin difosfato glucosa
síntesis de lípidos complejos	precursor	citidin difosfato colina
activación de los ac. grasos		CoA
activación de los aa en la sint. de proteínas		aminoacil-adenilato



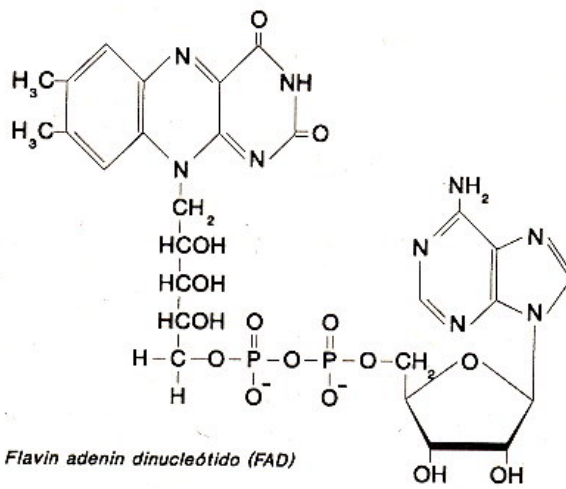
3.- Los nucleótidos operan como coenzimas en multitud de reacciones enzimáticas.

Por ejemplo: NAD⁺ y NADP⁺, FMN y FAD

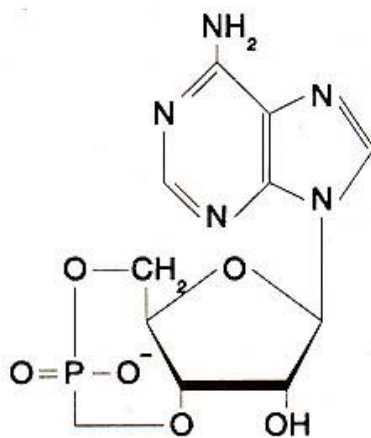
4.- Los nucleótidos cíclicos, como el cAMP y el cGMP operan como **segundos mensajeros intracelulares** de multitud de señales químicas (hormonas y neurotransmisores).



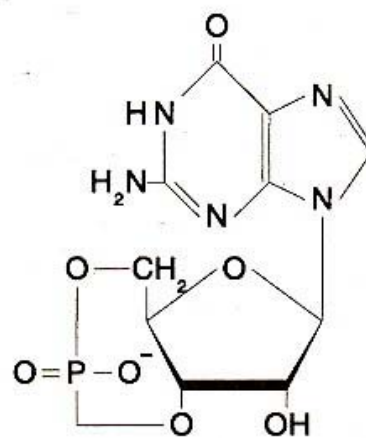
Nicotinamido adenin dinucleótido (NAD⁺)



Flavin adenin dinucleótido (FAD)

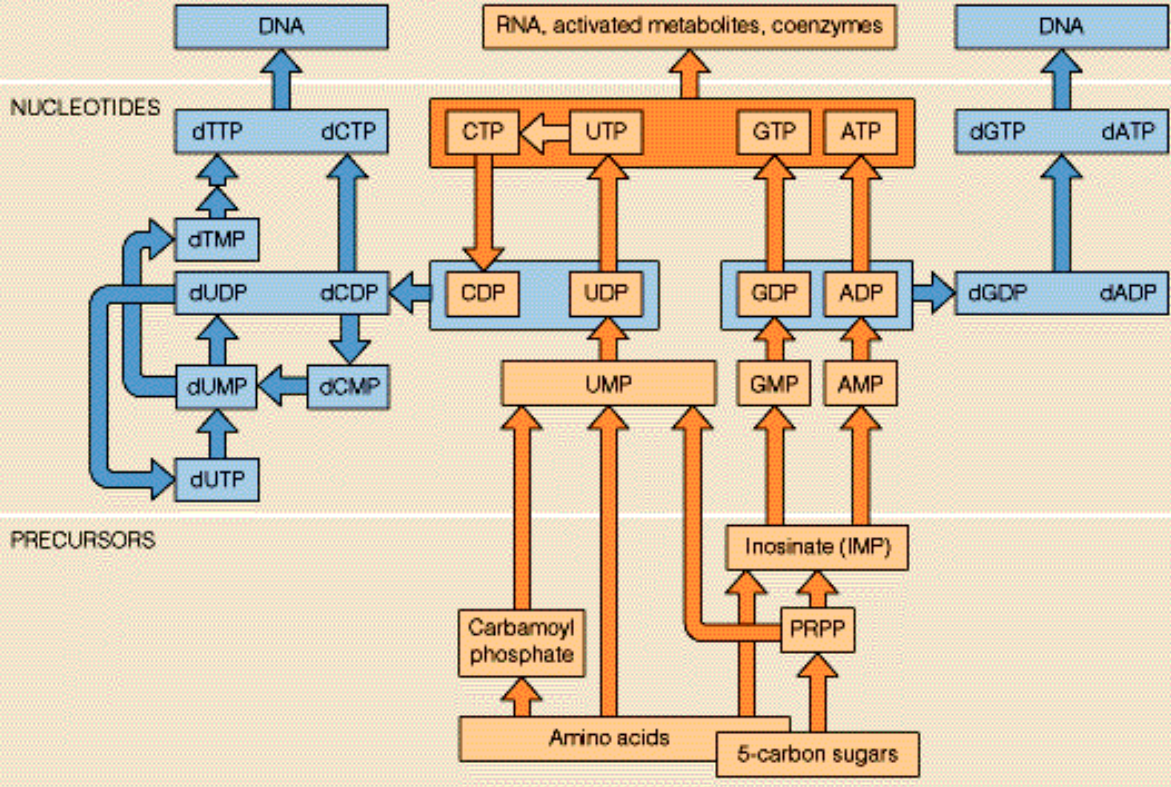


cAMP



cGMP

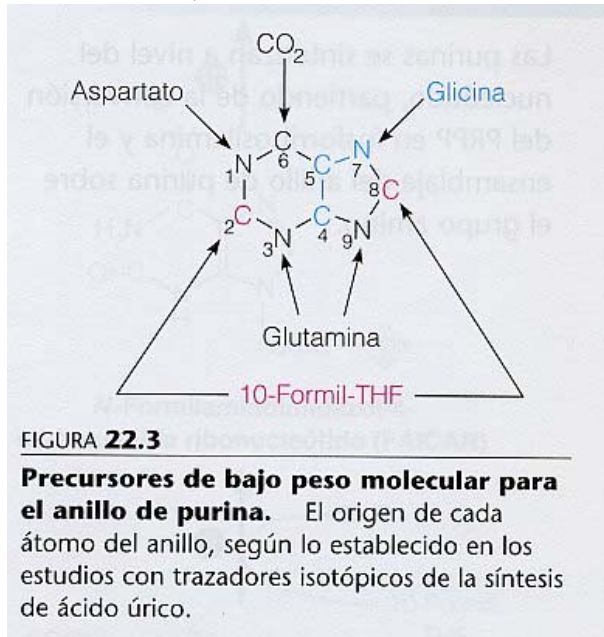
NUCLEIC ACIDS AND NUCLEOTIDE DERIVATIVES



METABOLISMO DE NUCLEÓTIDOS

1.- Síntesis de “NOVO” de nucleótidos purínicos.

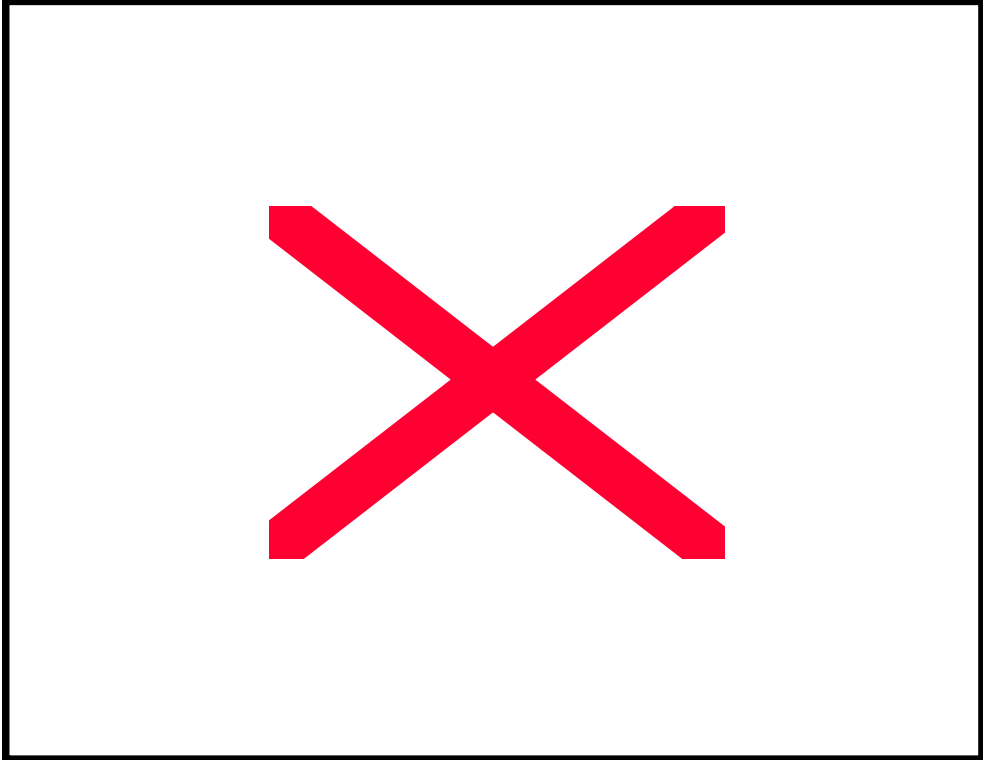
La síntesis ocurre a través de once reacciones; desde la D-ribose-5 fosfato hasta el IMP



John Buchanan en 1948



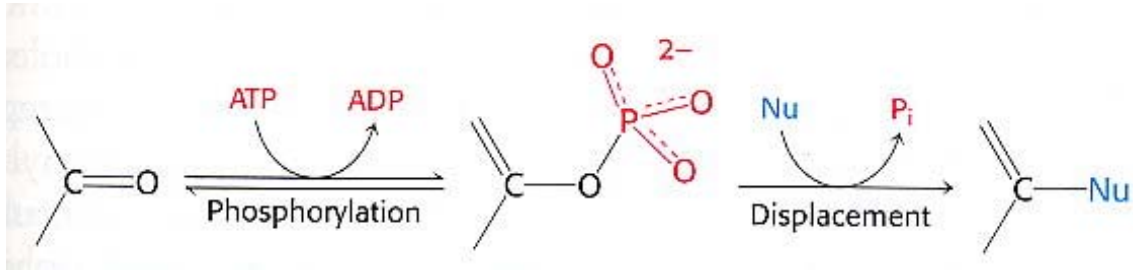
El PRPP: metabolito central en las rutas de novo y de recuperación



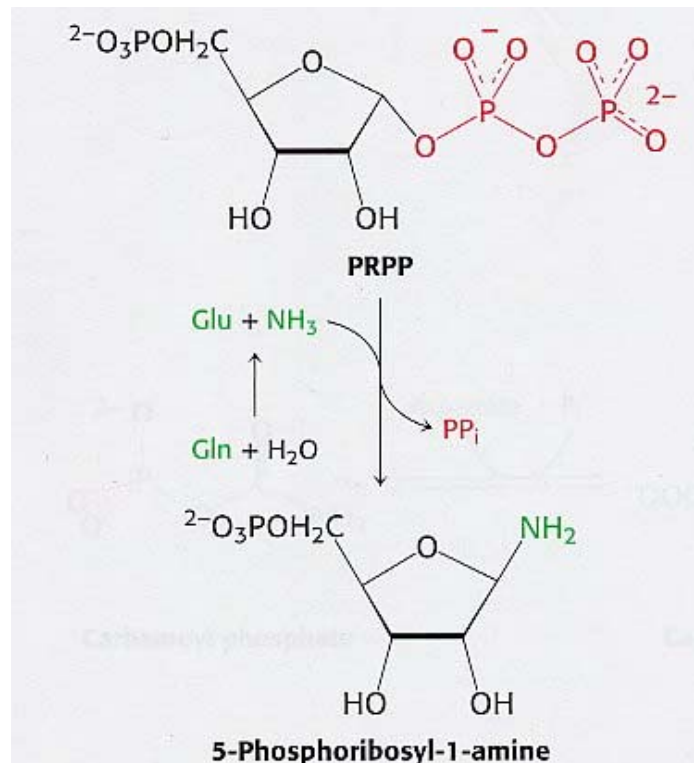
El anillo purínico es ensamblado sobre el PRPP en sucesivos pasos. En muchas reacciones el mecanismo consiste en la activación por fosforilación seguido por desplazamiento.

Activación de un átomo de oxígeno (grupo carbonilo) por fosforilación, seguido del desplazamiento del grupo fosforilo por un grupo amonio o amino actuando como nucleófilo (Nu).

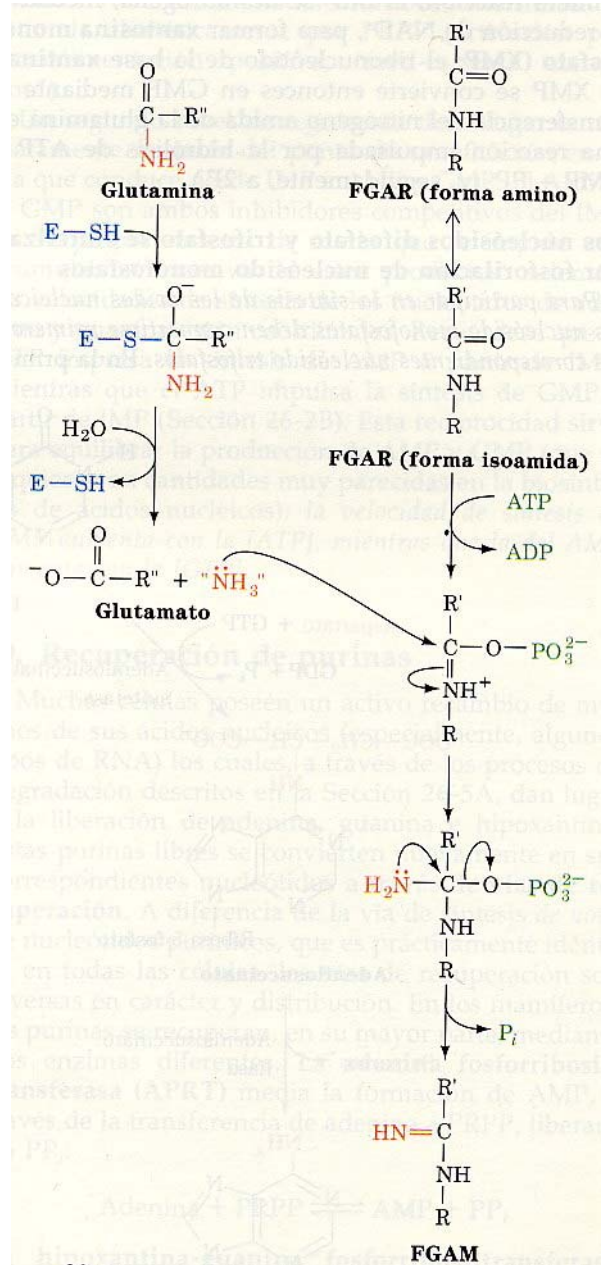
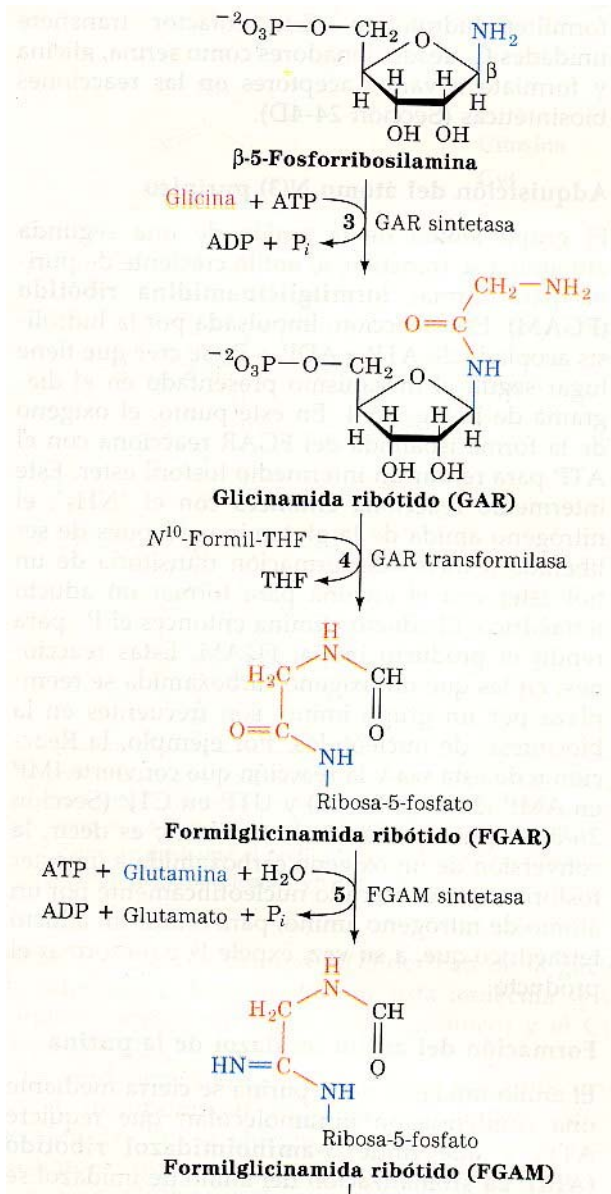
Ejemplo:

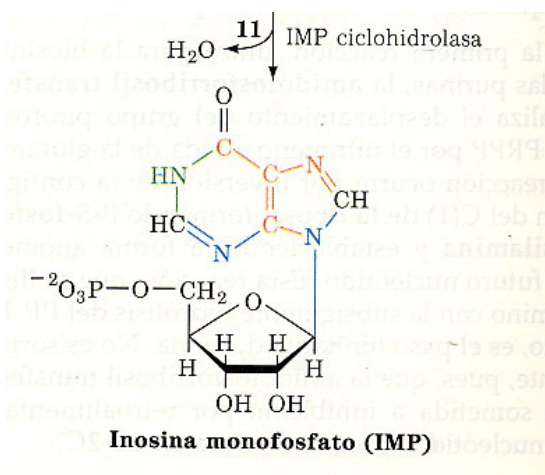
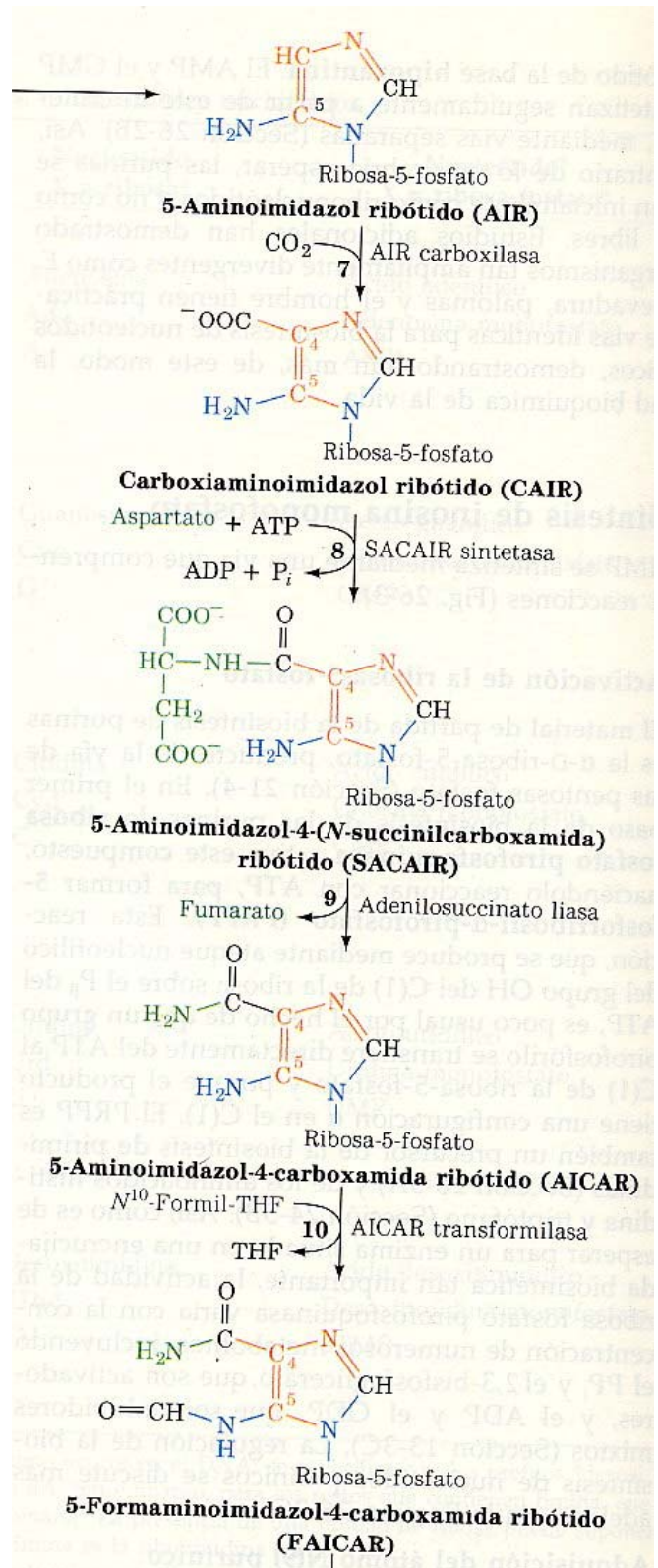
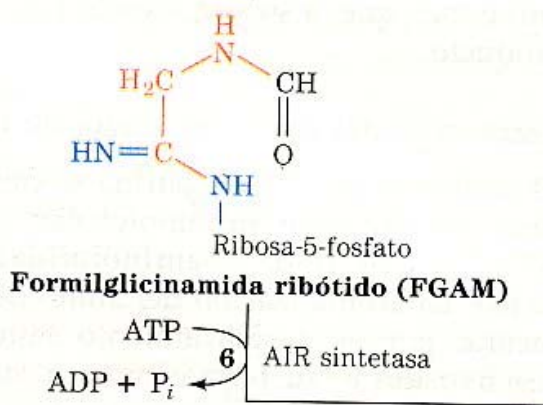


2.- Glutamina fosforribosilamino transferasa. Enzima con dos dominios; un residuo de cisteina ubicado en el lado amino terminal de uno de ellos produce la formación de amonio a partir de la glutamina.



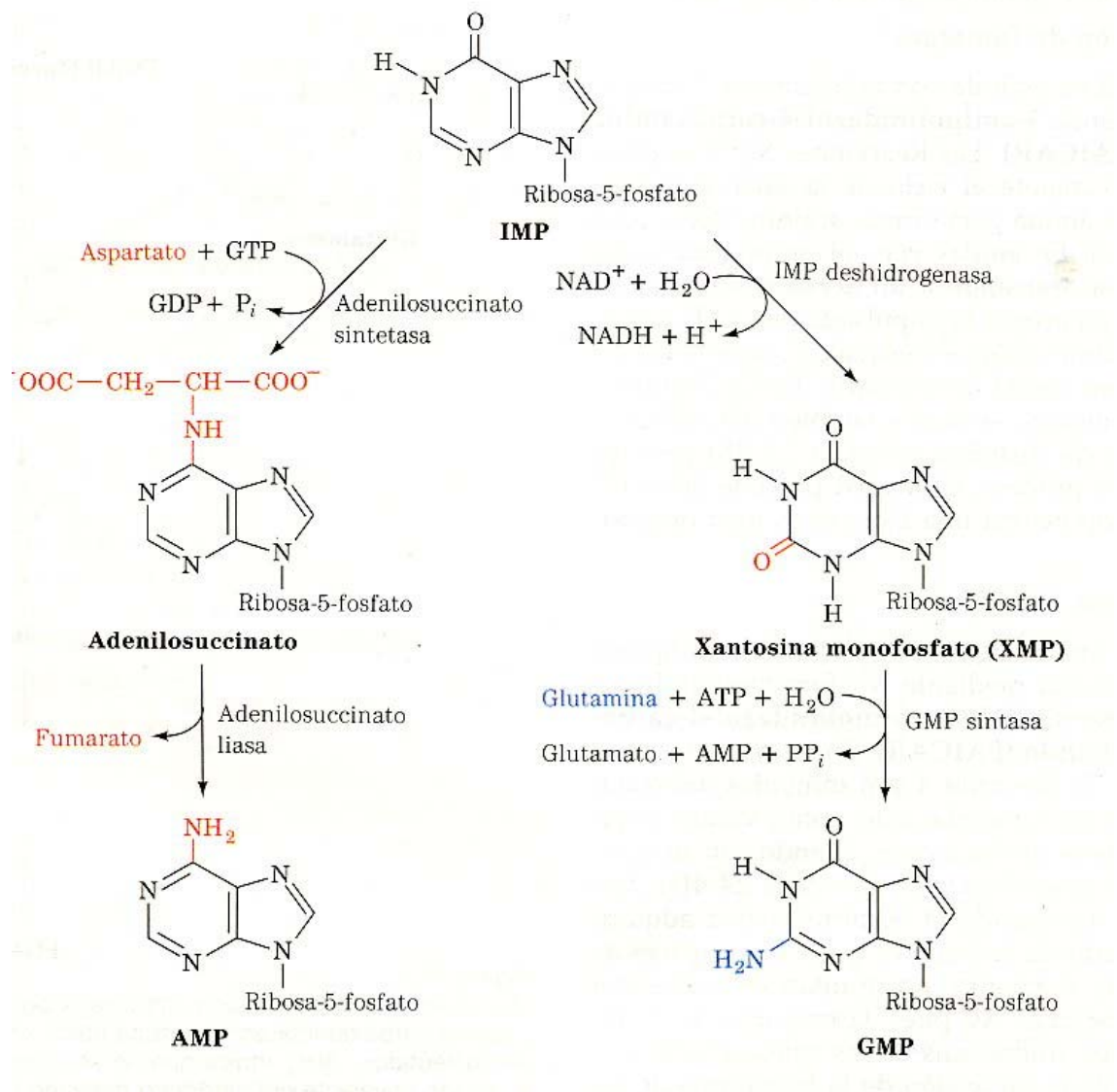
Reacciones 3,4 y 5. Mecanismo catalítico de la formilglicinamida ribótido (FGAM)





Reacciones de la 6 a la 11

Síntesis de nucleótidos de adenina y guanina a partir de inosina monofosfato



Los nucleósidos di- y trifosfatos se sintetizan por fosforilación de nucleósidos monofosfatos



Nucleósido monofosfato quinasas específicas para cada base; ej. Adenilato quinasa. Los nucleósidos di fosfatos se convierten a los correspondientes trifosfatos por la acción de la nucleósido difosfato quinasa. Por ej.



Regulación de la biosíntesis de nucleótidos purínicos

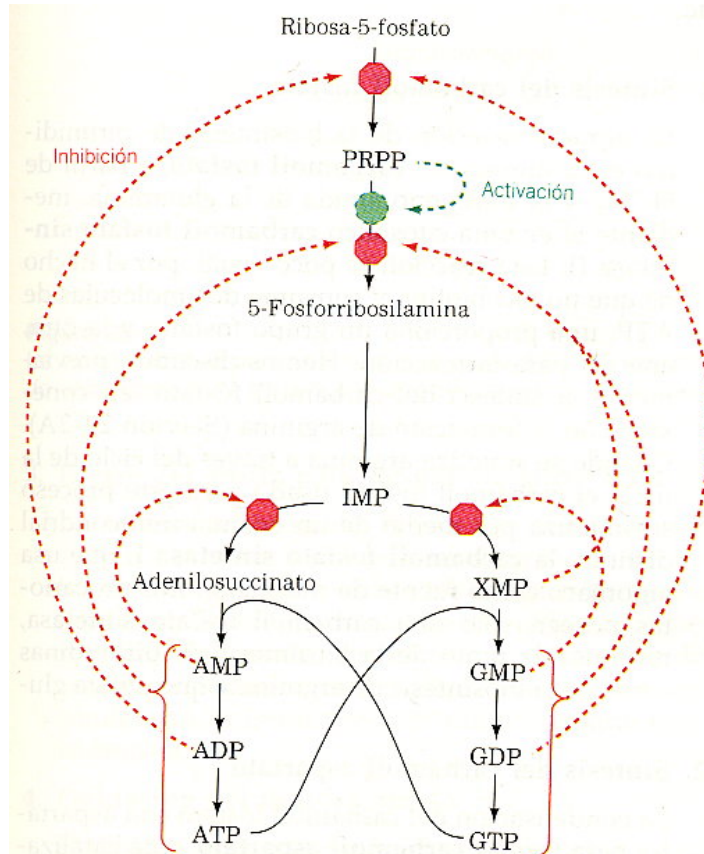


Figura 26-6

Red de control para la vía de biosíntesis de las purinas. Los octágonos rojos y el círculo verde indican los puntos de control. La inhibición por retroalimentación se indica mediante flechas rojas discontinuas y la activación por retroalimentación positiva, mediante la flecha verde discontinua.

Recuperación de purinas

Adenina +PRPP adenina fosforribosil transferasa (APRT) AMP + PPi

Hipoxantina +PRPP hipoxantina-guanina fosforribosil transferasa (HGPRT) IMP + PPi

Guanina +PRPP “ GMP + PPi

El síndrome de Lesch-Nyhan es consecuencia de una deficiencia de HGPRT

Síntesis de “Novo” de nucleótidos pirimidínicos.

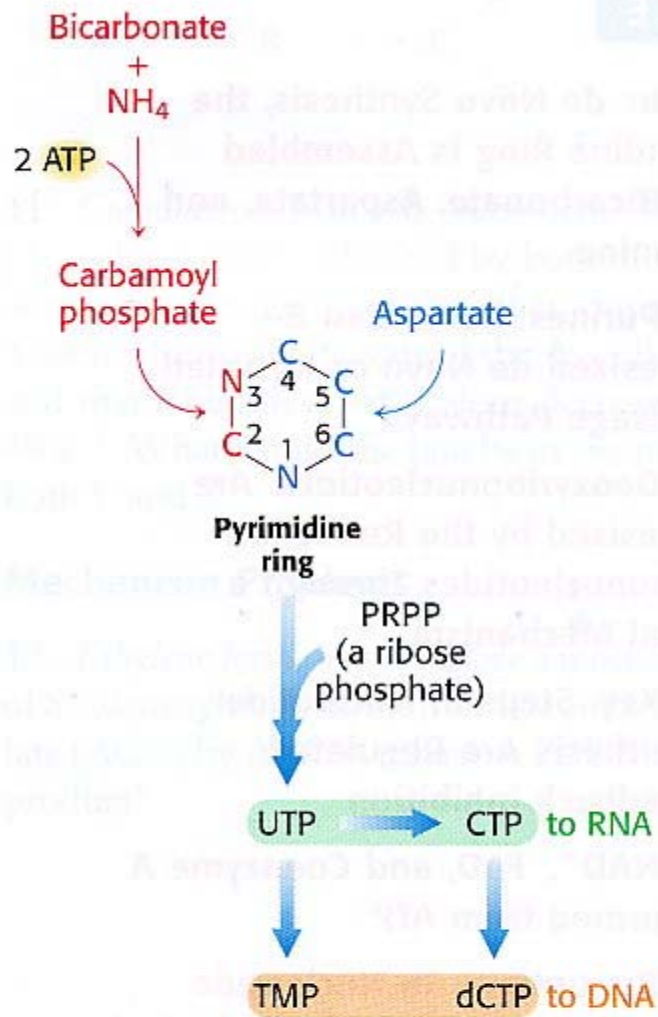


FIGURE 25.2 De novo pathway for pyrimidine nucleotide synthesis. The C-2 and N-3 atoms in the pyrimidine ring come from carbamoyl phosphate, whereas the other atoms of the ring come from aspartate.

a) Síntesis del carbamoil fosfato

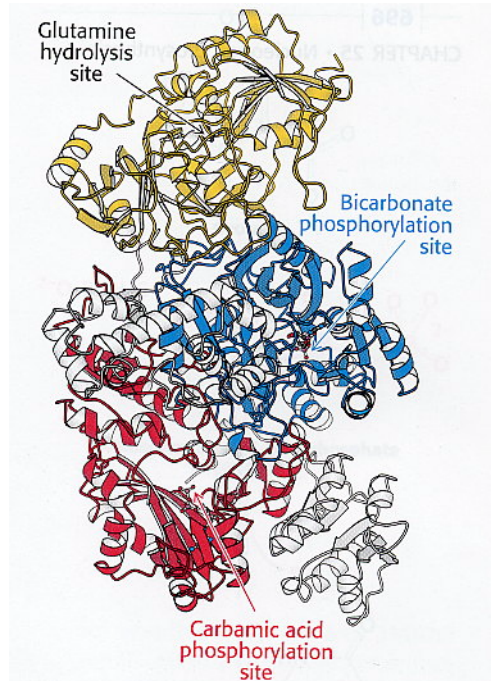
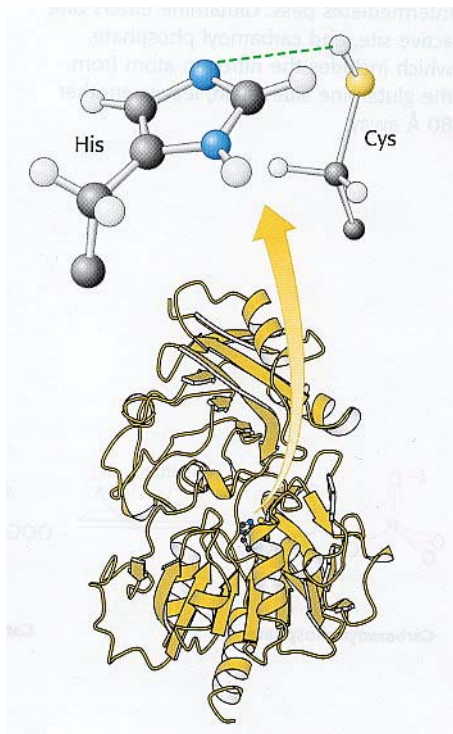
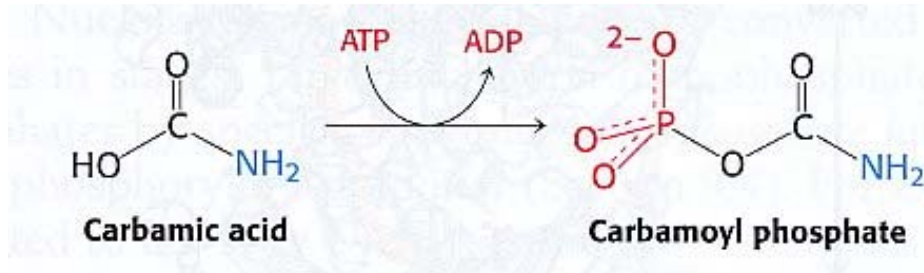
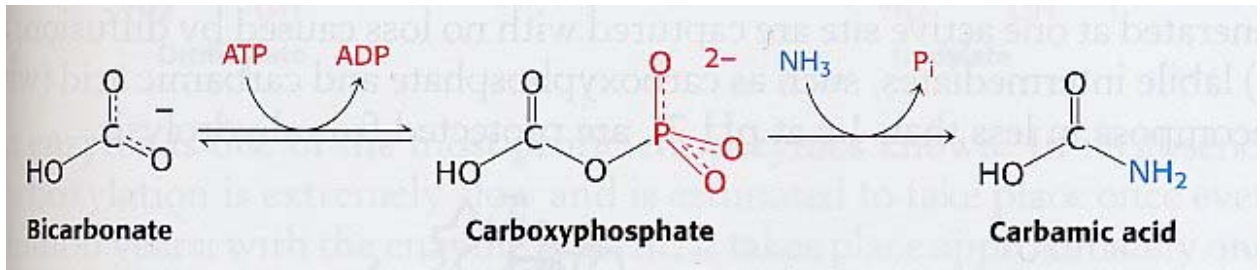


FIGURE 25.3 Structure of carbamoyl phosphate synthetase. This enzyme consists of two chains. The smaller chain (yellow) contains a site for glutamine hydrolysis to generate ammonia. The larger chain includes two ATP-grasp domains (blue and red). In one ATP-grasp domain (blue), bicarbonate is phosphorylated to carboxyphosphate, which then reacts with ammonia to generate carbamic acid. In the other ATP-grasp domain, the carbamic acid is phosphorylated to produce carbamoyl phosphate.

Los intermediarios se mueven entre los diferentes sitios activos mediante “channeling”; evitando así la difusión y la hidrólisis.

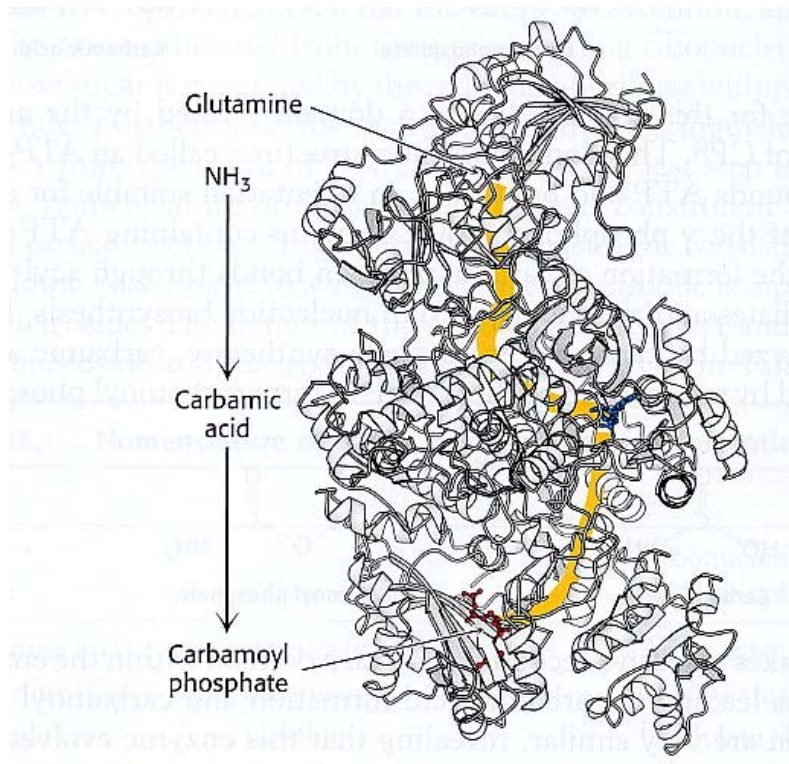
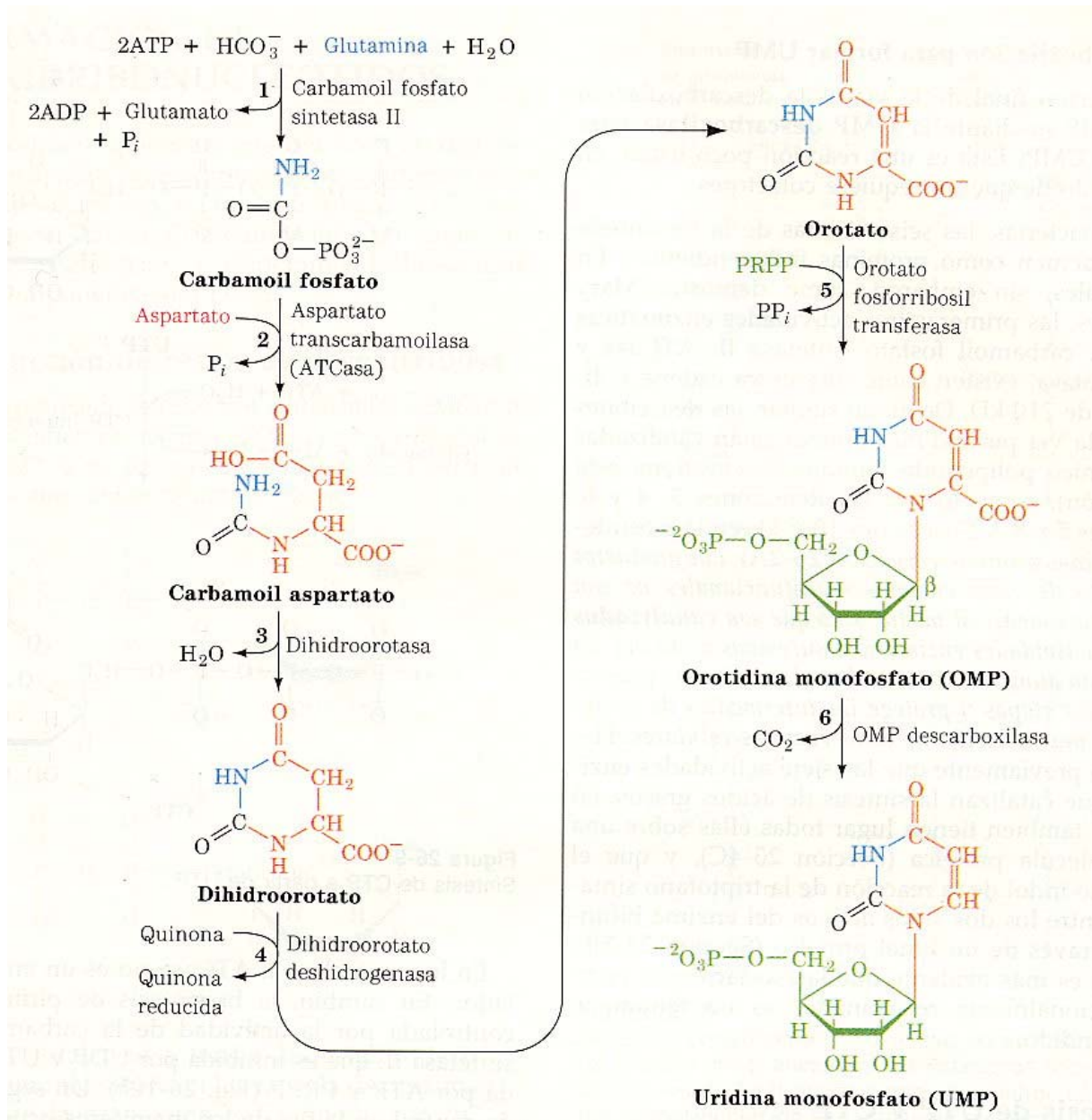


FIGURE 25.5 Substrate channeling.

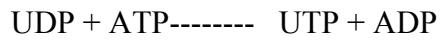
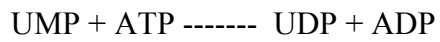
The three active sites of carbamoyl phosphate synthetase are linked by a channel (yellow) through which intermediates pass. Glutamine enters one active site, and carbamoyl phosphate, which includes the nitrogen atom from the glutamine side chain, leaves another 80 Å away.

b) Síntesis de orotato y adquisición del anillo de ribosa a partir del PRPP , para formar un nucleótido y posterior conversión en uridina monofosfato (UMP).

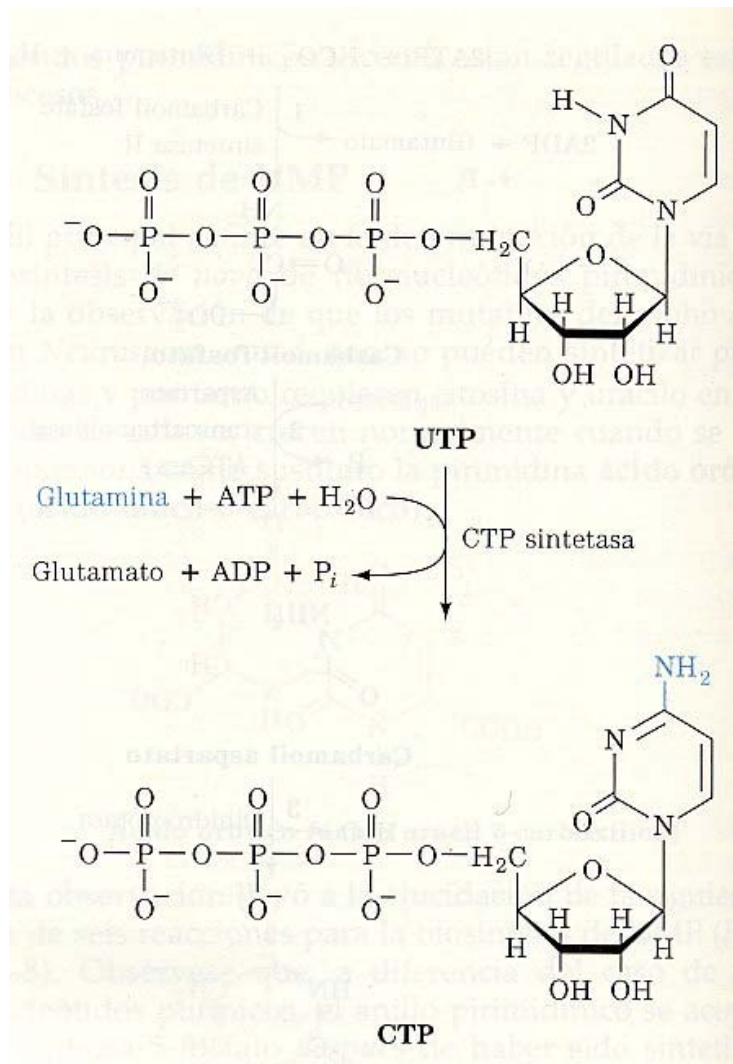


c) Síntesis de UTP y CTP

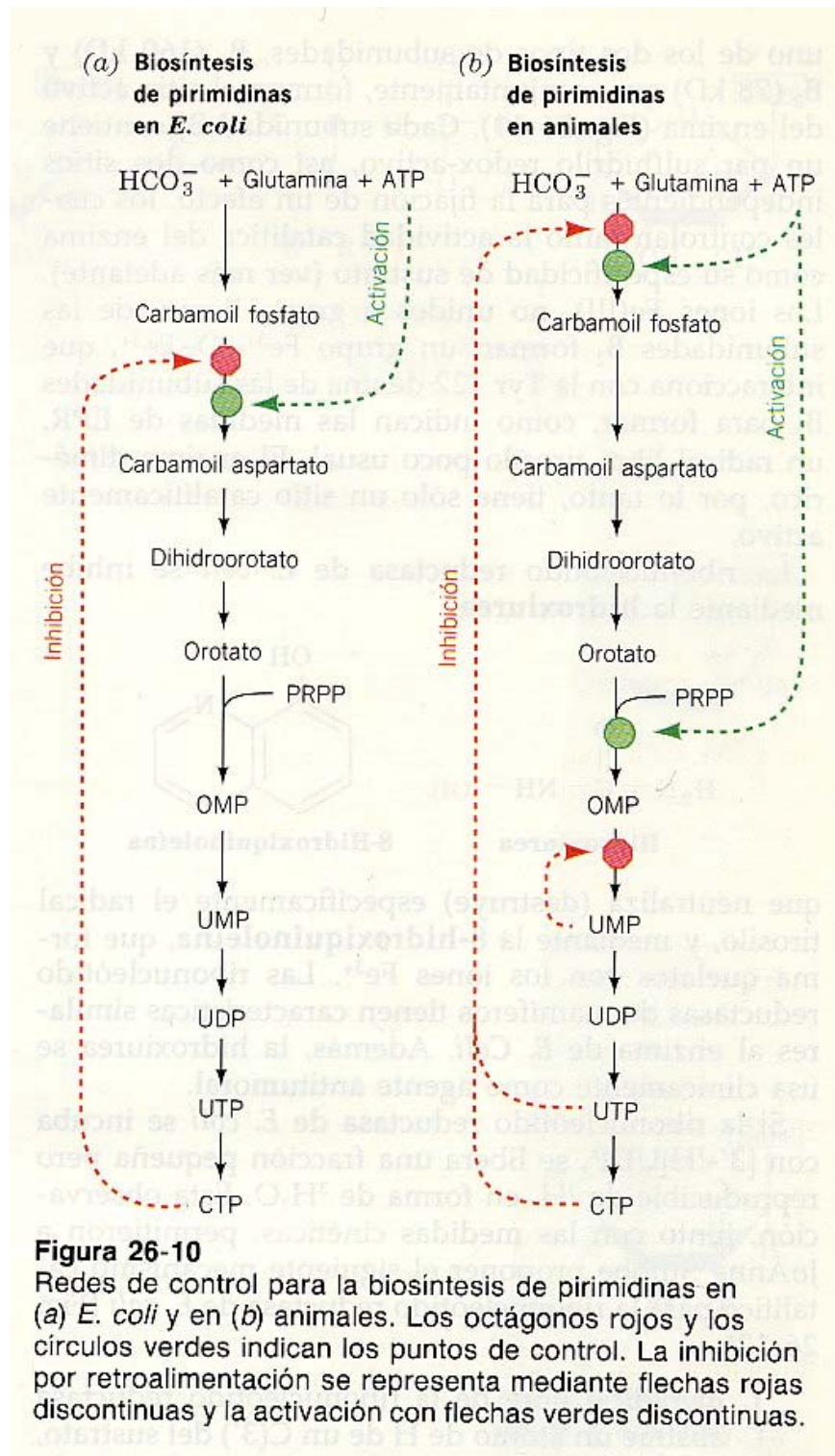
El proceso ocurre mediante las acciones secuenciales de la nucleósido monofosfato quinasa y de la nucleósido difosfato quinasa:



El CTP se forma por aminación del UTP mediante la CTP sintetasa



d) Regulación de la biosíntesis de nucleótidos pirimidínicos



2.- Recuperación de pirimidinas

Existe una vía de recuperación de pirimidinas similar a la de las purinas.

La pirimidina fosforribosil transferasa sintetiza UMP a partir de uracilo y PRPP, pero no a partir de citosina y PRPP.

Síntesis de desoxirribonucleótidos.

1.- Síntesis de desoxirribonucleótidos (dNDP): ribonucleótido reductasa

Los desoxirribonucleótidos son sintetizados a partir de sus correspondientes ribonucleótidos por reducción de su posición 2', y no por su síntesis de novo a partir de precursores que contienen desoxirribosa. Las enzimas que catalizan la formación de los desoxirribonucleótidos a partir de los correspondientes ribonucleótidos son las **ribonucleótido reductasas**; que son de tres tipos:

I) Que contienen un puente de oxígeno diférrico sin grupo hemo, en sus sitios activos, utilizan ribonucleósidos difosfatos como sustratos

II) Las que utilizan el cofactor 5'-desoxiadenosilcobalamina, un coenzima B12, utilizan ribonucleósidos trifosfatos como sustratos

III) Las que utilizan S-adenosilmetionina y un centro hierro-azufre, utilizan ribonucleósidos trifosfato como sustratos

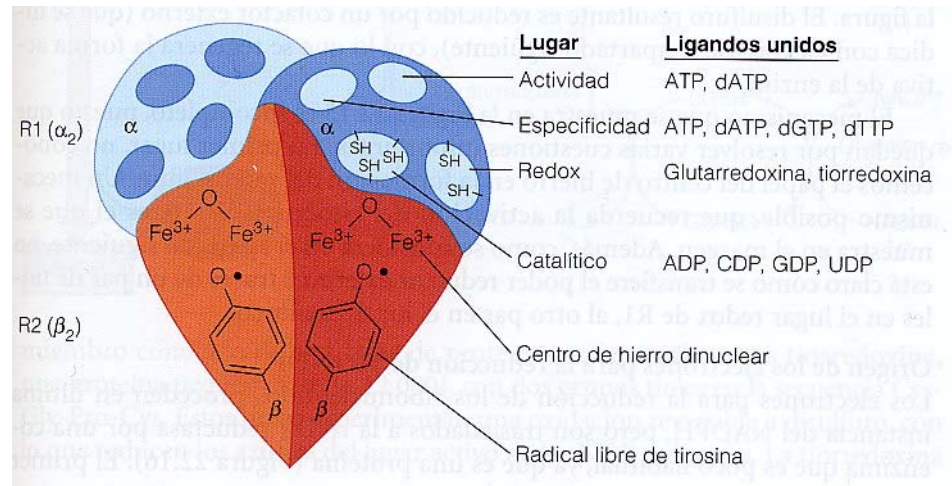
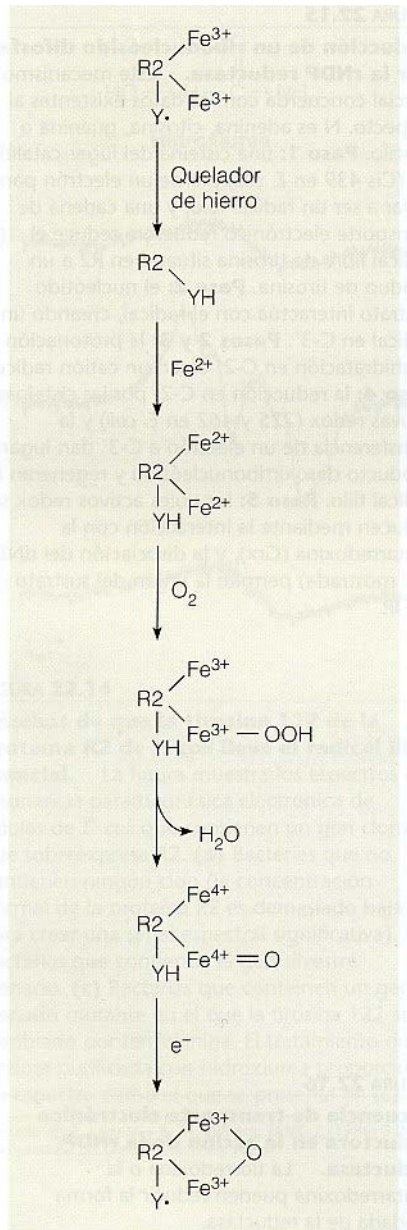
a) Composición-estructura de la ribonucleótido reductasa (rNDP reductasa tipo I) en E.coli y mamíferos.

Tetrámero $\alpha_2 \beta_2$ dispuestas en dos subunidades: R1 y R2

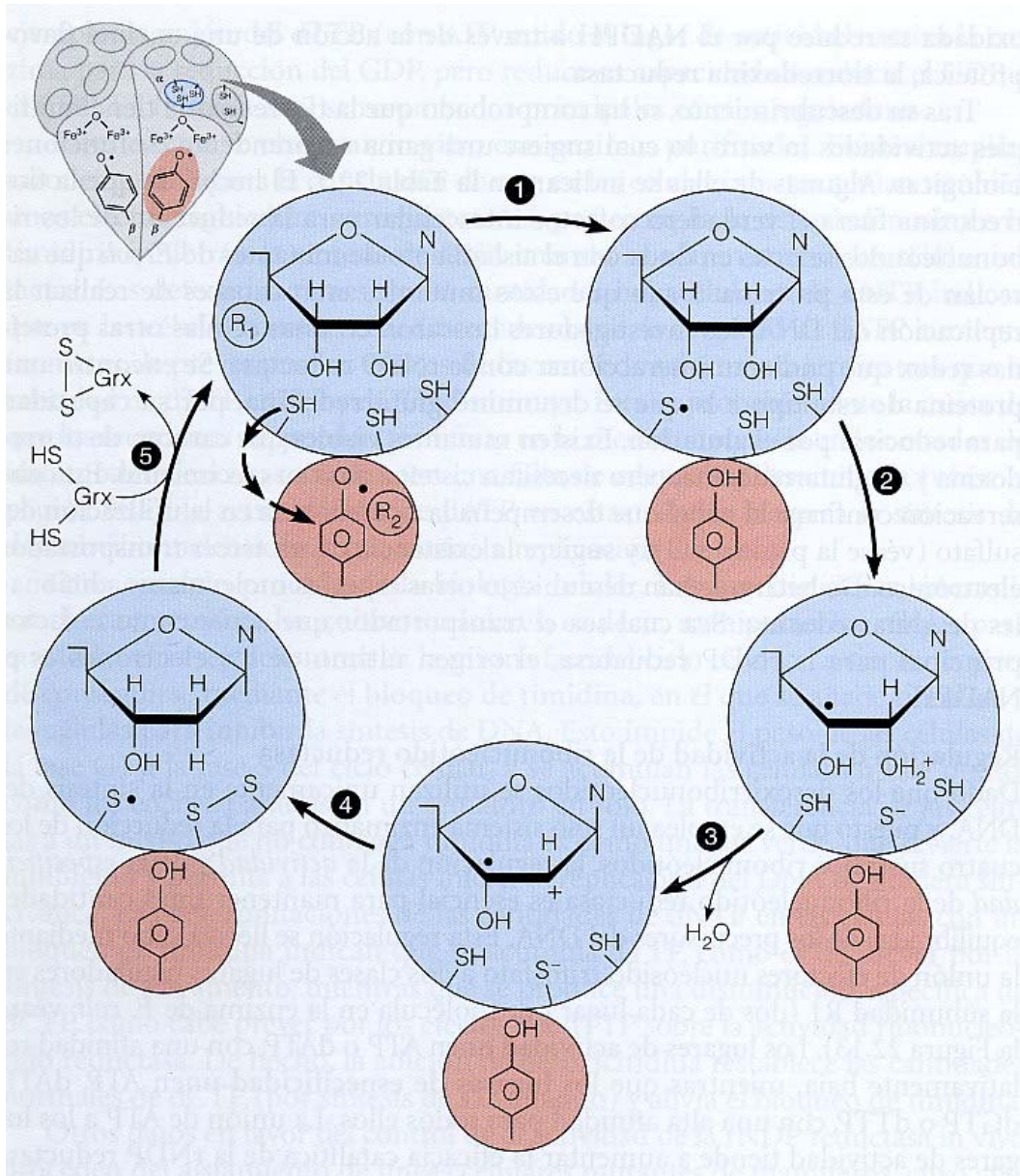
Subunidad R1 de 87 Kda formada por dos cadenas α . Esta subunidad contiene el sitio activo; formado por tres residuos de cisteína y uno de glutamato, dos centros de control alostérico y un par adicional de grupos tiol activos redox, que interactúan con un cofactor reductor externo.

Subunidad R2 de 43 Kda formada por dos cadenas β . Contiene un radical libre en un residuo de tirosina que interviene en la reacción, y un átomo de oxígeno que forma un puente entre dos iones férricos. Este centro de hierro dinuclear estabiliza el radical libre.

b) La enzima genera su radical sobre un residuo específico de tiroxina, con la ayuda de un puente de oxígeno diférrico



C) Mecanismo de reducción de los ribonucleótidos



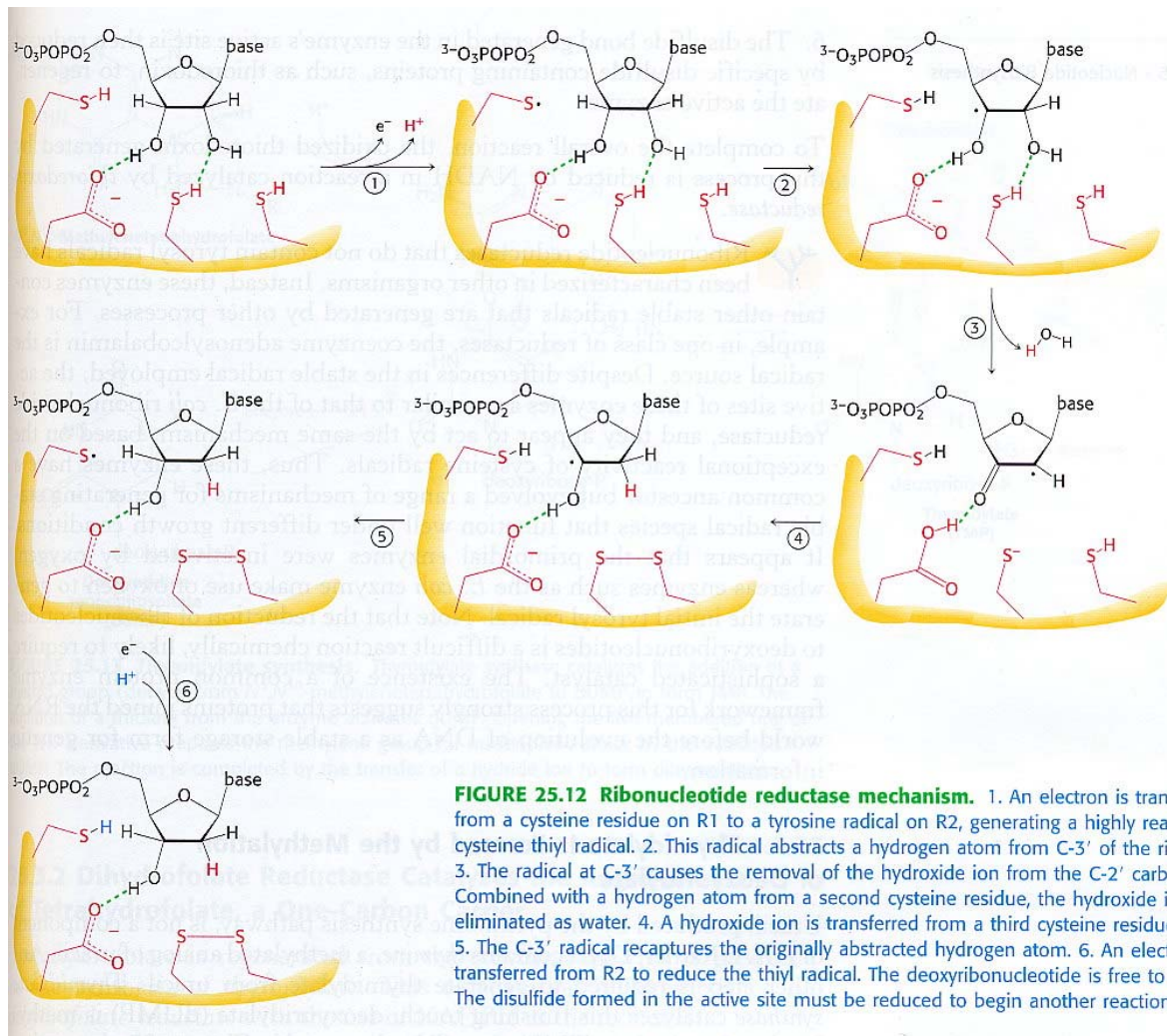


FIGURE 25.12 Ribonucleotide reductase mechanism. 1. An electron is transferred from a cysteine residue on R1 to a tyrosine radical on R2, generating a highly reactive cysteine thyl radical. 2. This radical abstracts a hydrogen atom from C-3' of the ribose unit. 3. The radical at C-3' causes the removal of the hydroxide ion from the C-2' carbon atom. Combined with a hydrogen atom from a second cysteine residue, the hydroxide ion is eliminated as water. 4. A hydroxide ion is transferred from a third cysteine residue. 5. The C-3' radical recaptures the originally abstracted hydrogen atom. 6. An electron is transferred from R2 to reduce the thyl radical. The deoxyribonucleotide is free to leave R1. The disulfide formed in the active site must be reduced to begin another reaction cycle.

d) Origen de los electrones para la reducción de los rNDP

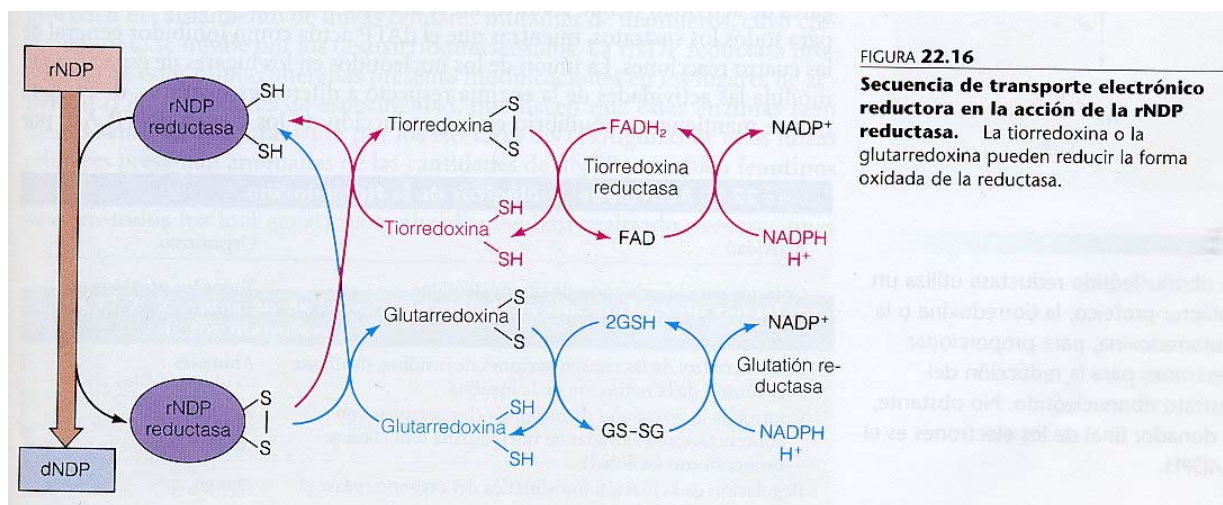


FIGURA 22.16
Secuencia de transporte electrónico reductora en la acción de la rNDP reductasa. La tiorredoxina o la glutarredoxina pueden reducir la forma oxidada de la reductasa.

e) Regulación de la actividad catalítica

TABLA 22.2 Regulación de las actividades de la ribonucleótido reductasa de los mamíferos

Nucleótido unido en			
Lugar de actividad	Lugar de especificidad	Activa la reducción de	Inhibe la reducción de
ATP	ATP o dATP	CDP, UDP	
ATP	dTTP	GDP	CDP, UDP
ATP	dGTP	ADP	CDP, UDP ^a
dATP	Cualquier efector		ADP, GDP, CDP, UDP

^a La unión de dGTP inhibe la reducción de los nucleótidos de pirimidina por la enzima de mamíferos pero no por la enzima de *E. coli*.

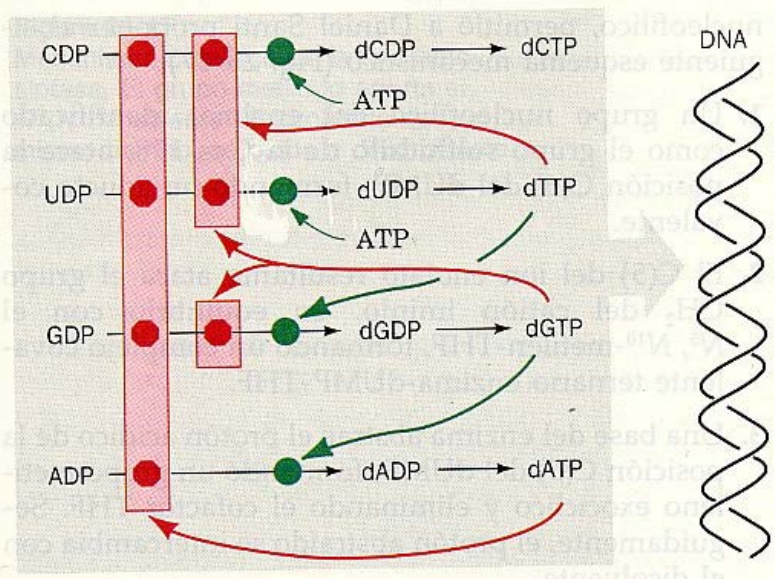
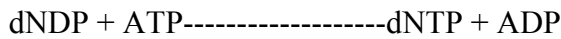


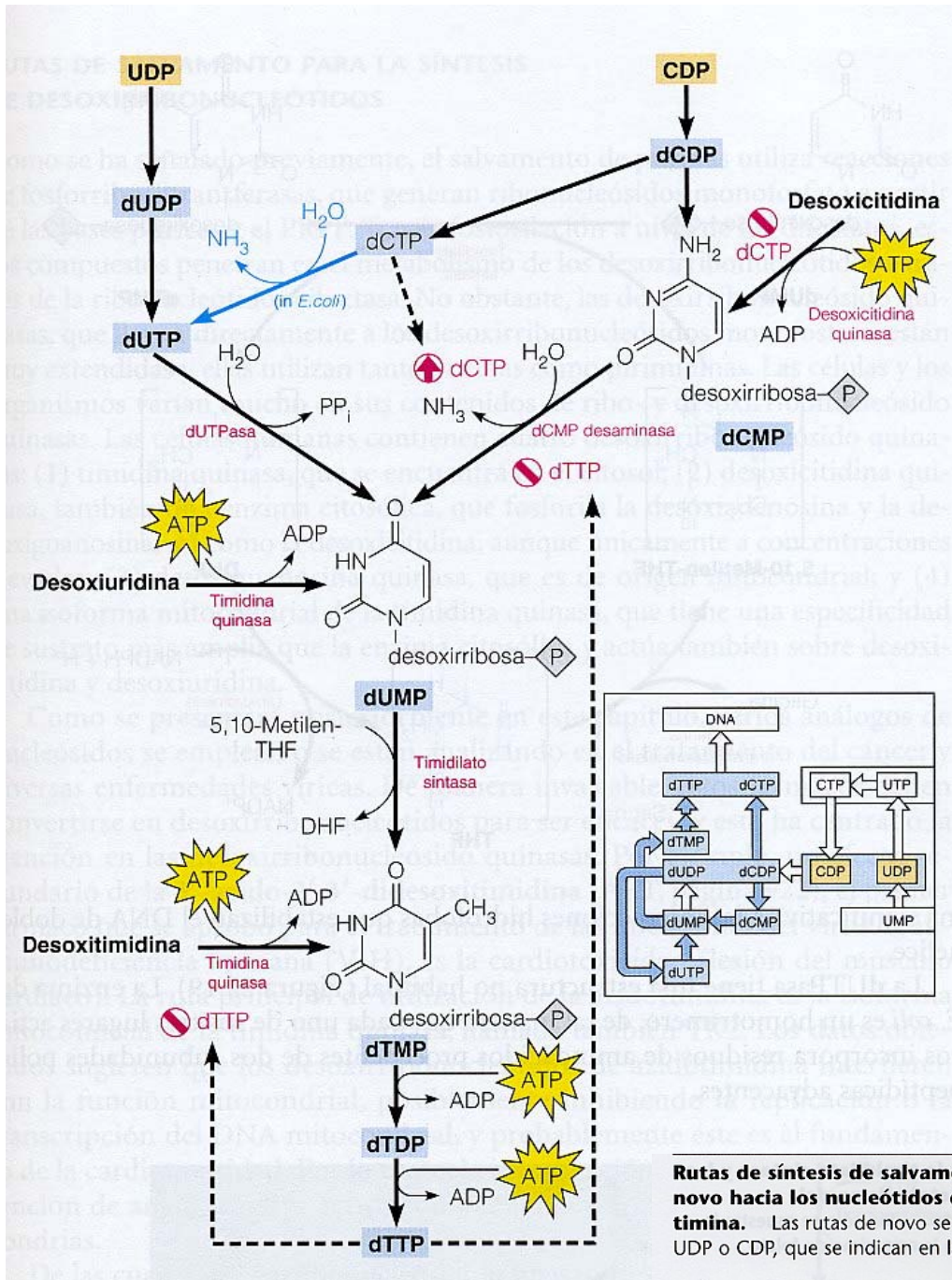
Figura 26-15 Red de control para la regulación de la biosíntesis de desoxirribonucleótidos mediante las ribonucleótido reductasas de *E. coli* y de mamíferos. Los círculos y las flechas verdes representan activación; los octógonos y las flechas rojas indican inhibición. [Según Thelender, L. y Reichard, P., *Annu. Rev. Biochem.* **48**, 153 (1978).]

2.- Los dNTPs se producen por fosforilación de dNDPs.



Reacción catalizada por la nucleósido difosfato quinasa; y como dador de fosfato puede ser cualquier nucleósido trifosfato, aunque lo mas frecuente es que sea el ATP.

Biosíntesis de “Novo” y de recuperación los desoxirribonucleótidos de timina.



Metabolismo de los nucleótidos de desoxiuridina

Enzimas

- A) Timidina quinasa (vía de recuperación)
- B) dUTPasa (Importante en la exclusión del uracilo en el DNA)
- C) Timidilato sintasa

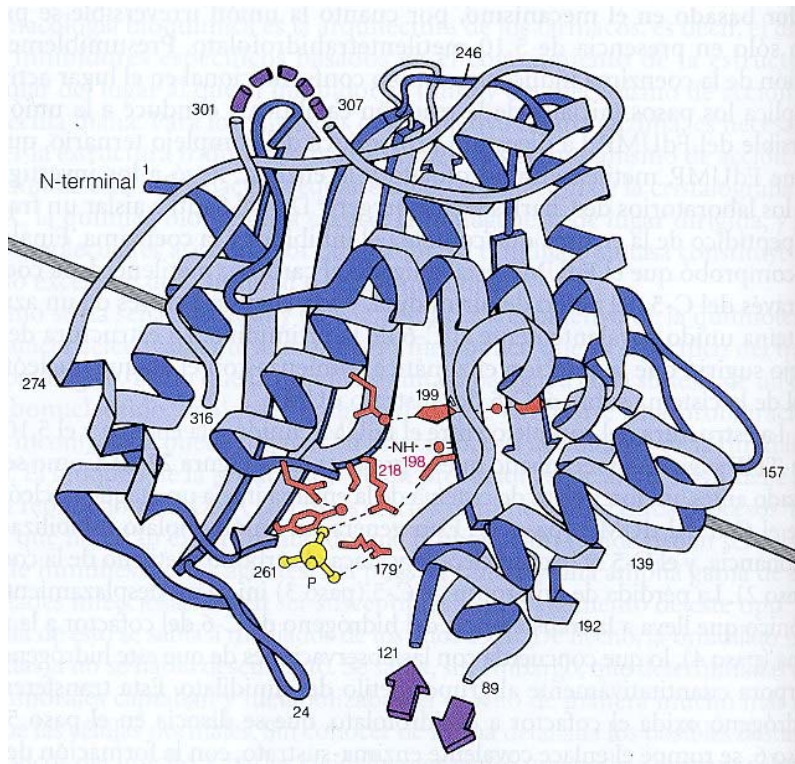


Estructura cristalina de la dUTPasa de *E. coli*. Una de las tres subunidades del homotrímero se muestra de color blanco, otra de color azul claro y otra de color azul oscuro. Cada subunidad contiene un brazo C-terminal que envuelve una unidad adyacente. Un inhibidor competitivo, el dUDP (se muestra de color naranja), está unido a cada uno de los tres lugares catalíticos y cada lugar se forma en una zona de unión entre las subunidades.

Cortesía de Elle Cedergren-Zeppenauer y Gunilla Larsson.

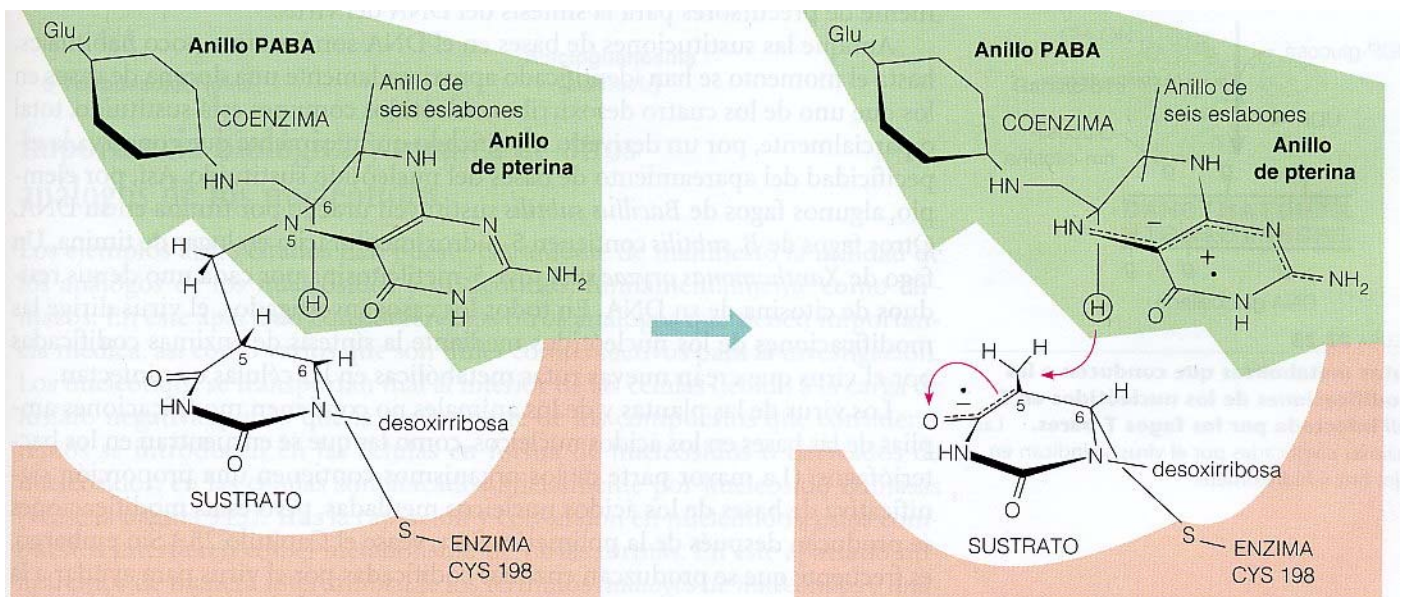
c) Timidilato sintasa

1) estructura



Estructura de la enzima dimérica timidilato sintasa de *Lactobacillus casei*. (a) Disposición de las hélices y la cadena extendida en un monómero. El extremo amino es el número 1. La cadena rota en 301-307 y la ruptura entre 89 y 121 corresponden a regiones desordenadas de la estructura. Los residuos de aminoácido conservados se muestran en la hendidura del lugar activo. La Arg 179' es del monómero adyacente. (b) Estructura del homodímero.

Cortesía de L. W. Hardy, J. Finer-Moore, D. V. Santi y R. M. Stroud, *Science* (1987) 235:448-455. © 1987 AAAS.



c) Timidilato sintasa

1) Estructura

Es una proteína dimérica de 70 KDa, el mecanismo catalítico ha sido muy estudiado mediante análogos del sustrato e inhibidores irreversibles como el 5-fluorodesoxiuridilato (FdUMP).

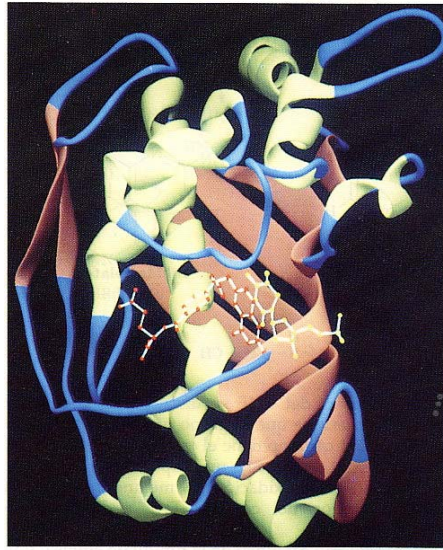
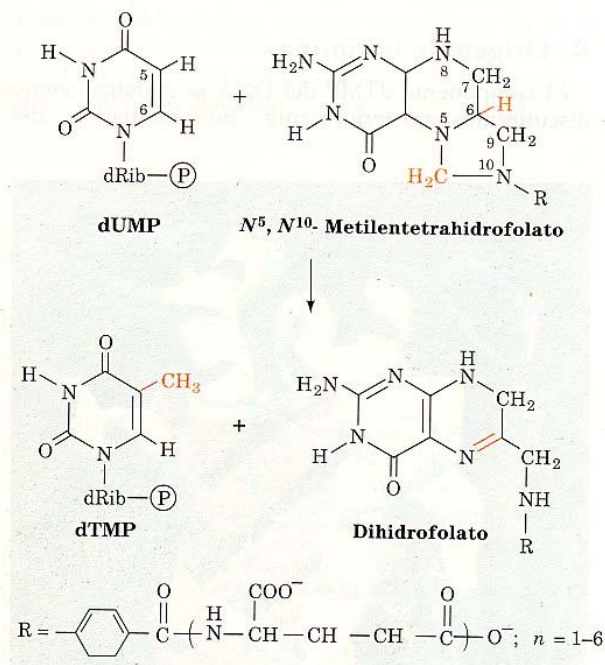


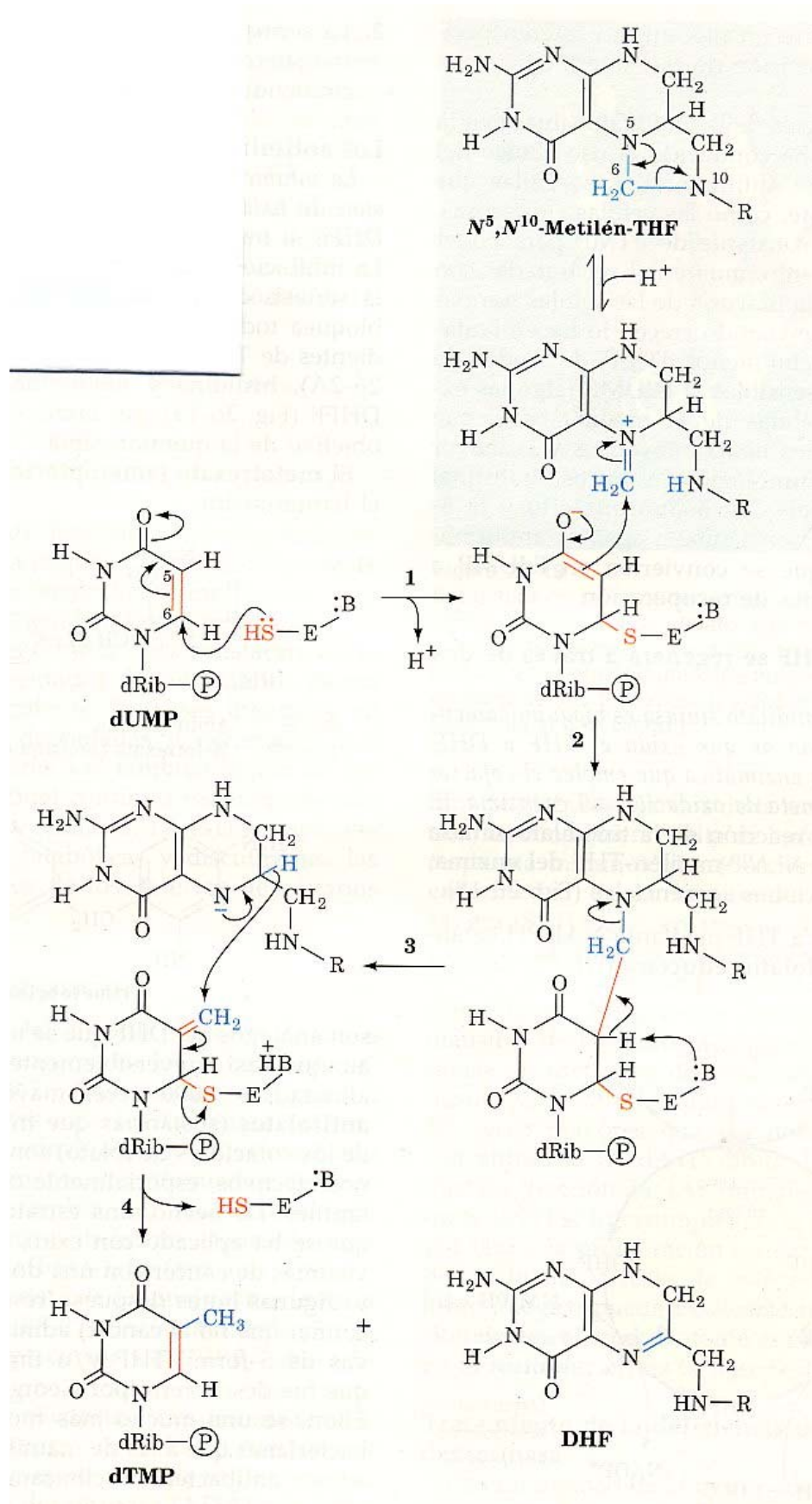
Figura 26-16
Estructura de rayos-X de una subunidad del enzima dimérico de *E. coli* timidilato sintasa, complejada con 5-fluorodesoxiuridilato (FdUMP; *bolas amarillas*) y el análogo no reactivo del ácido fólico, **ácido 10-propargil-5,8-dideazofólico** (*bolas rojas*). El esqueleto polipeptídico aparece coloreado, de modo que las hélices son verdes, las hojas β son marrones y los restantes segmentos son azules. [Por cortesía de David Matthews, Agouron Pharmaceuticals.]

El dTMP se sintetiza a partir de dUMP mediante la timidilato sintasa con N⁵,N¹⁰-metiléntetrahidrofolato (N⁵,N¹⁰-metilén-THF) como dador de metilos:



El grupo metileno transferido (el carbono con estado de oxidación del formaldehído) se reduce a un grupo metilo (estado de oxidación del metanol) a expensas de la oxidación del THF a dihidrofolato. El cambio redox tiene lugar mediante la migración del átomo de H del N(6) del THF, como ión hidruro, hacia el grupo metileno exocíclico, convirtiéndolo en un grupo metilo.

2) Mecanismo catalítico de la timididilato sintasa



3.- El N5, N10-metilen-THF se regenera a través de dos reacciones

- El DHF se reduce a THF mediante NADPH
- La serina hidroximetil transferasa, transfiere el grupo hidroximetil de la serina al THF

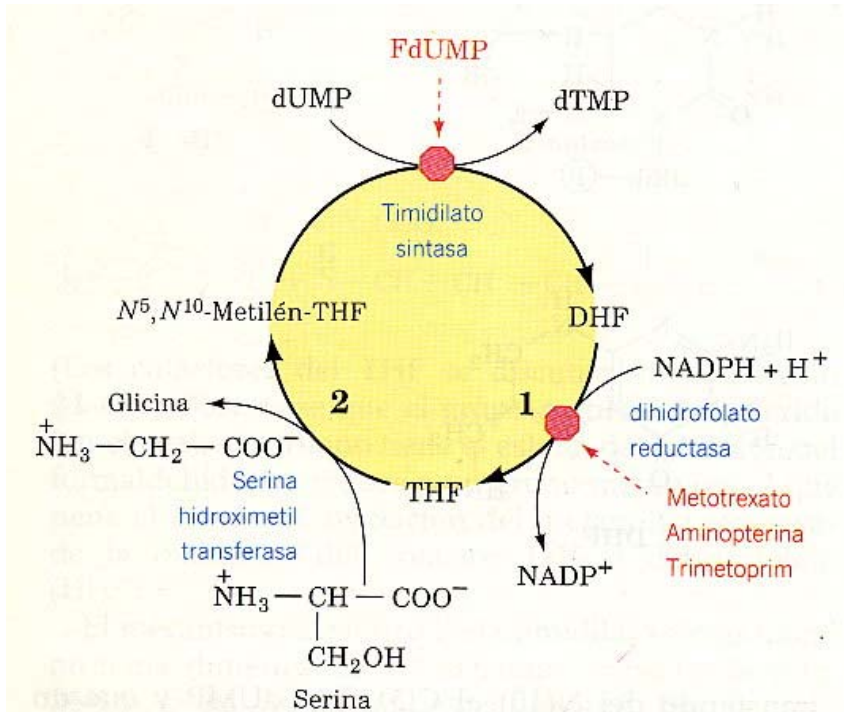


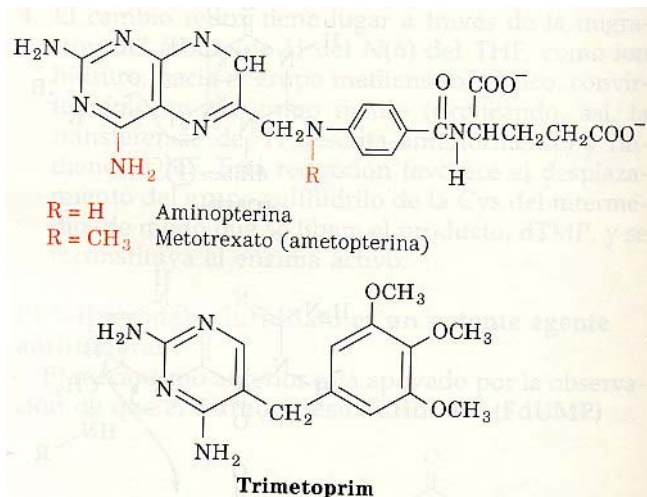
Figura 26-18

El N^5,N^{10} -metilentetrahydrofolato, que se convierte a DHF mediante la reacción de la timidilato sintasa, se regenera mediante las acciones secuenciales de (1) dihidrofolato reductasa y (2) serina hidroximetil transferasa. La timidilato sintasa es inhibida por FdUMP, mientras que la dihidrofolato reductasa se inhibe por los antifolatos metotrexato, aminopterina y trimetoprim.

Los antifolatos son agentes anticancerígenos

La inhibición de la DHFR produce la rápida conversión de todas las reservas de THF a DHFR, a través de la reacción de la timidilato sintasa.

Inhibidores competitivos del DHF



Rutas de recuperación de los desoxirribonucleótidos

a) Síntesis de “Novo”

1.-Bases + PRPP----fosforribosiltransferasa ----- NMP

2.-NMP + ATP -----quinasas ----- NDP + ADP

3.-NDP + NADPH—ribonucleótido reductasa --- dNDP

b) Vía de recuperación

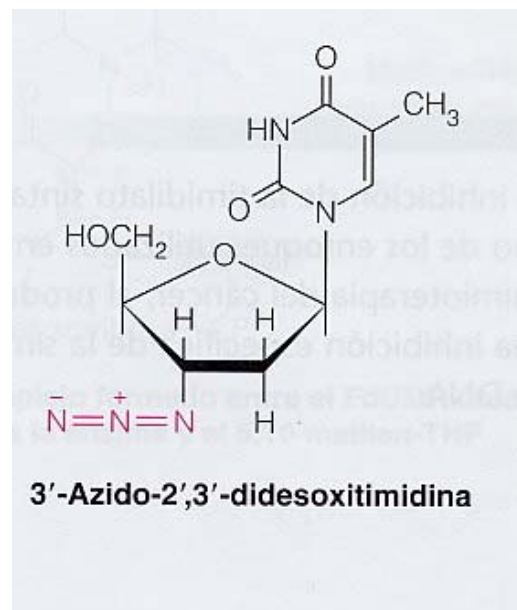
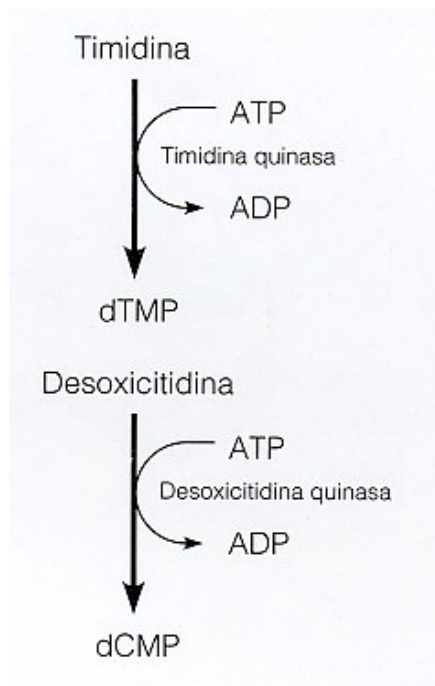
Las desoxirribonucleósido quinasas dan directamente los correspondientes dNMP

Las ribo- como las desoxirribonucleósido quinasas están muy extendidas; sin embargo, varía la proporción entre ellas según el tipo celular y organismo que se trate.

Tipos de desoxirribonucleósido quinasas:

- 1) Timidina quinasa, citosólica, (TK1)
- 2) dCitidina quinasa, citosólica, fosforila a dCitidina, dAdenosina y dGuanosina
- 3) dGuanosina quinasa, mitocondrial
- 4) Timidina quinasa (isoforma de TK1), mitocondrial, fosforila también a dCitidina y dUridina (TK2).

Tres de ellas se sintetizan de forma constitutiva; mientras que la TK1 es inducida por la replicación del DNA y su producto se incorpora al DNA con más facilidad que el mismo compuesto sintetizado por la vía de “Novo”.

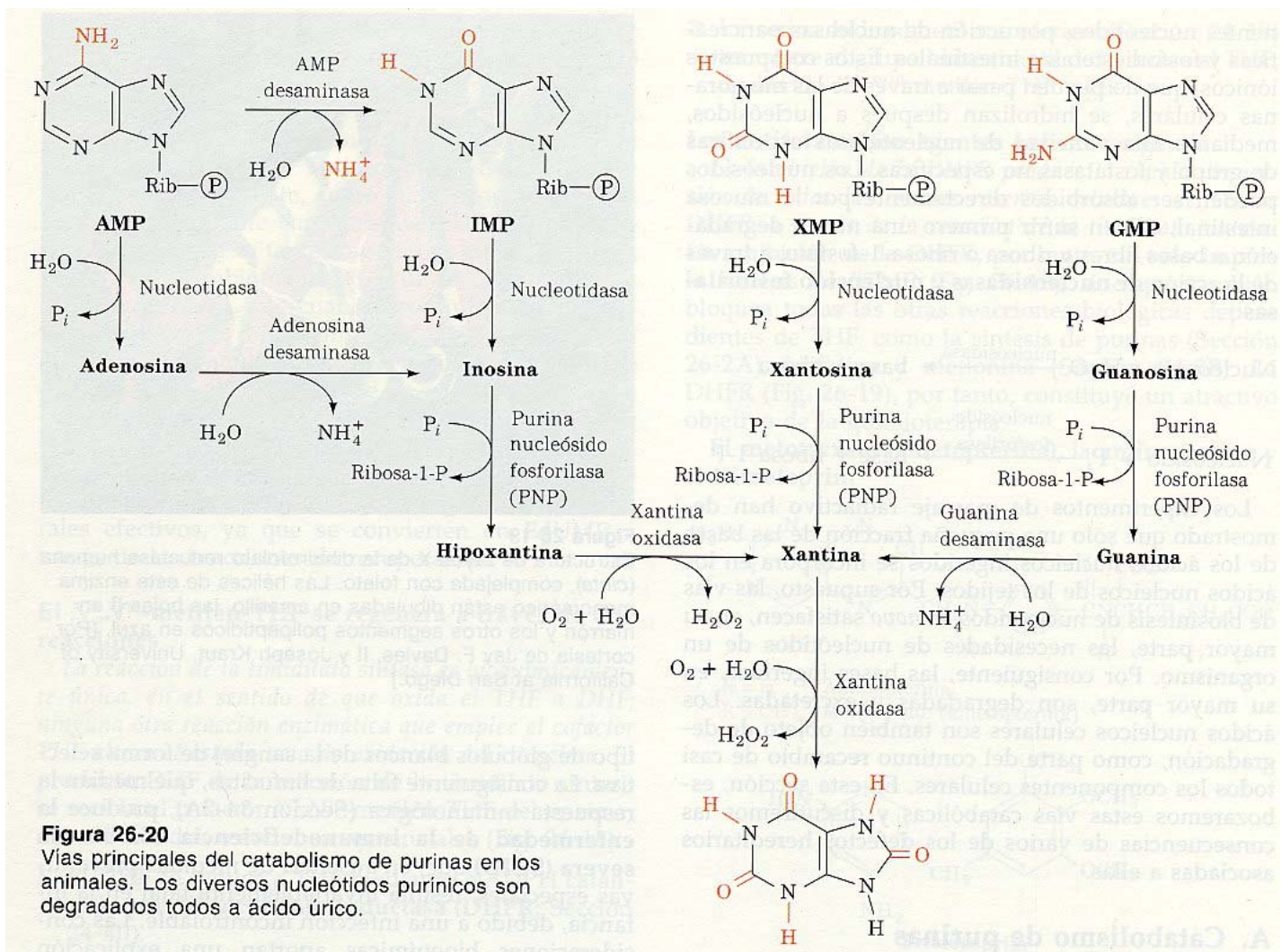


Degradación de nucleótidos

- 1) ac. nucléicos de la dieta --- nucleasas pancreáticas ----- Nucleótidos
fosfodiesterasas intestinales ---
- 2) Nucleótidos --- nucleotidasas específicas de grupo --- Nucleósidos
fosfatasa no específicas -----
- 3) Nucleósido + H₂O --- nucleosidasa ----- base + ribosa
- 4) Nucleósido + Pi ----- nucleósido fosforilasa --- base + ribosa 1-P

Las bases procedentes de la ingesta, en su mayoría, como las procedentes del recambio de los ac. nucléicos son **degradadas y excretadas**.

a) Catabolismo de purinas



1.- El ciclo de los nucleótidos purínicos

La desaminación del AMP a IMP, al combinarse con la síntesis de AMP a partir de IMP, tiene el efecto de desaminar el aspartato para dar fumarato. Este ciclo es de gran importancia en el músculo para cebar el ciclo de Krebs.

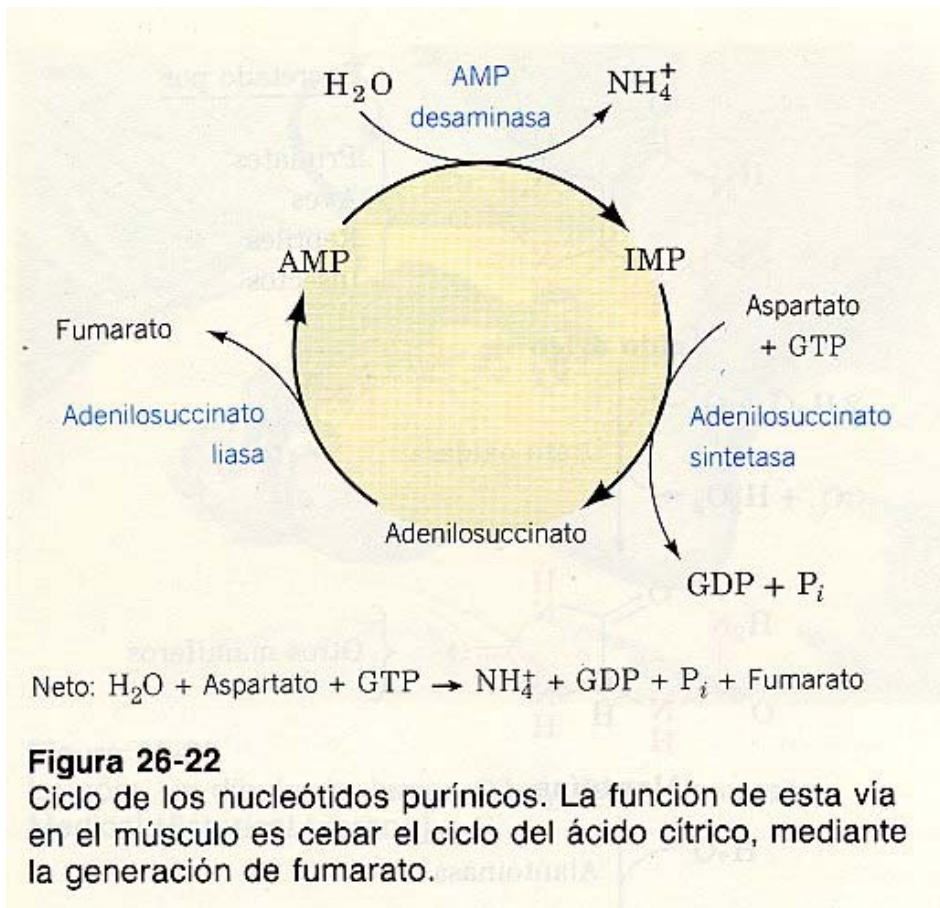
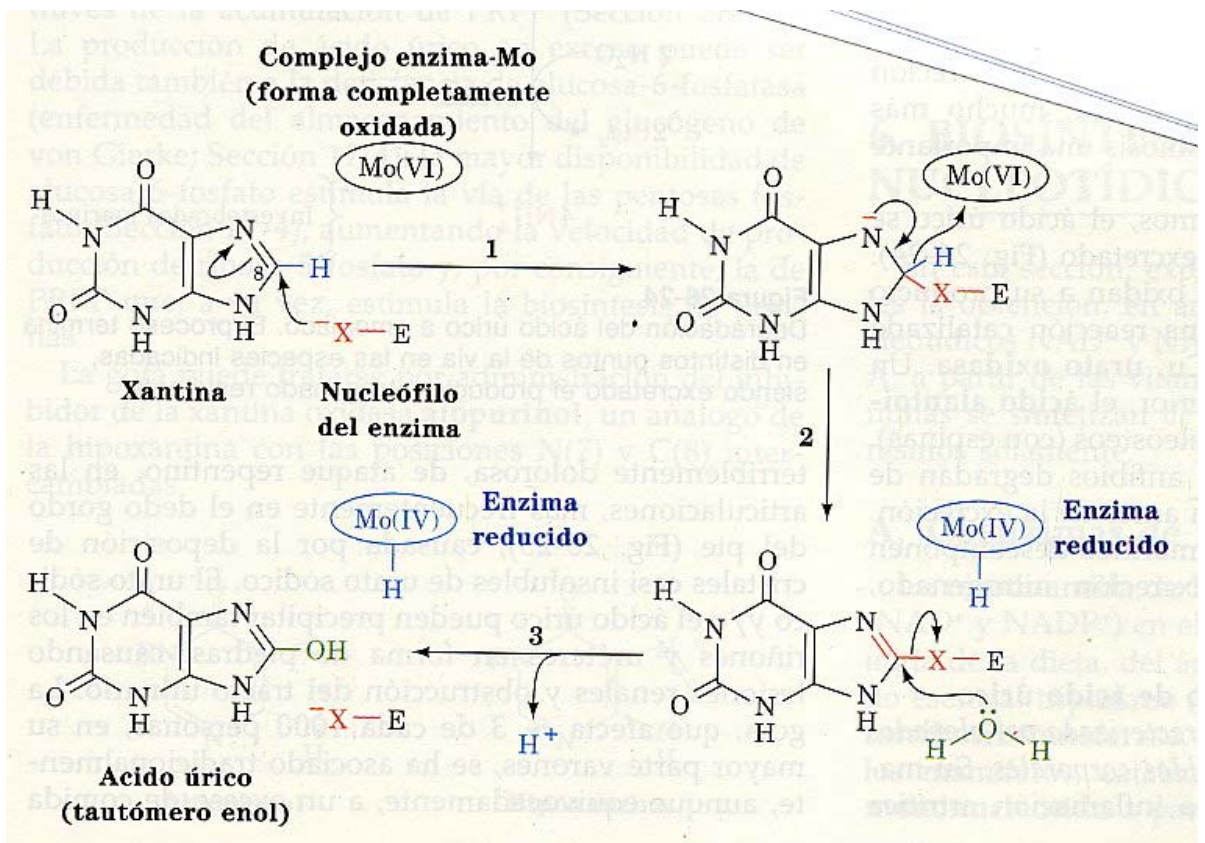
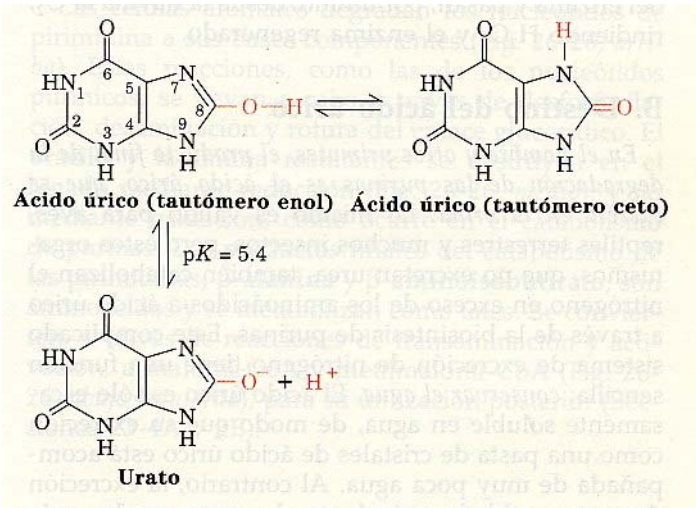


Figura 26-22

Ciclo de los nucleótidos purínicos. La función de esta vía en el músculo es cebar el ciclo del ácido cítrico, mediante la generación de fumarato.

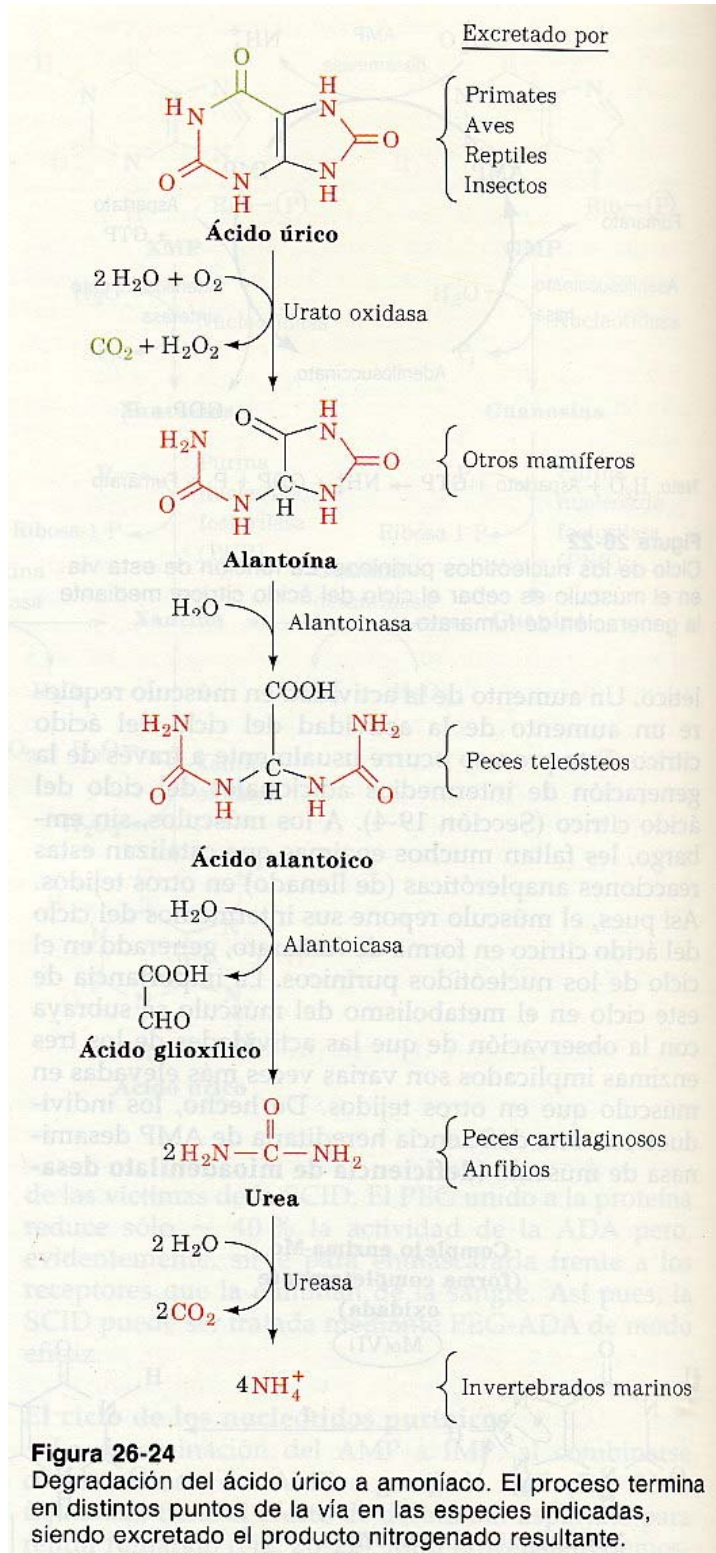
2.- Xantina oxidasa (proteína de transporte electrónico)

- Localizada en hígado y mucosa del intestino delgado
- Homodímero de 130 Kda por cadena que contiene cada una : un FAD, un complejo de Mo que cambia su estado de oxidación entre VI y IV y dos grupos Fe-S diferentes. El aceptor final de electrones es el O₂, que regenera el enzima oxidado, y produce H₂O₂ que se descompone por las catalasas dando H₂O y O₂.
- Hidroxila la hipoxantina en la posición C2 y a la xantina en posición C8 dando un producto que tautomeriza a la forma ceto mas estable. La forma enol puede ionizarse de ahí el nombre de ac. úrico.



3.- Destino del ac. úrico

En el hombre y otros primates, el producto final de la degradación de las purinas es el ac. úrico, que se excreta por la orina. Lo mismo es válido para aves, reptiles terrestres y muchos insectos, pero estos organismos, que no excretan urea, también catabolizan el exeso de nitrógeno de los aminoácidos a ac. úrico a través de la biosíntesis de purinas. La función que tiene este sistema es la de conservar el agua.



b) Catabolismo de pirimidinas

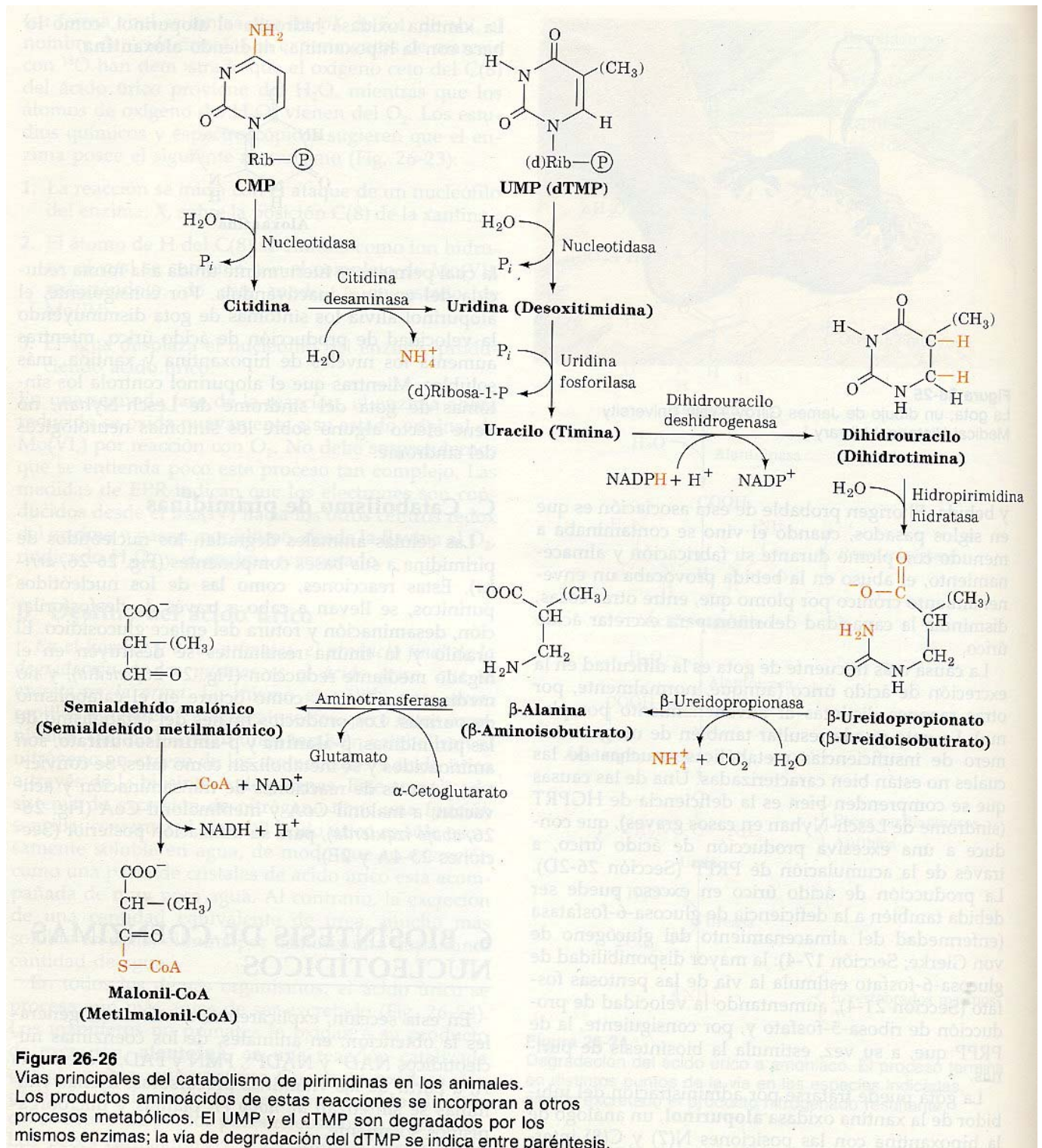


Figura 26-26

Vías principales del catabolismo de pirimidinas en los animales. Los productos aminoácidos de estas reacciones se incorporan a otros procesos metabólicos. El UMP y el dTMP son degradados por los mismos enzimas; la vía de degradación del dTMP se indica entre paréntesis.