



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

TRABAJO FIN DE GRADO

TÍTULO:

**INHIBIDORES DE LA
TIMIDILATO SINTASA**

Autor: Adrián García Esteban

Tutor: M^a Nieves Cabezas Baudot

Convocatoria: Junio

1 ÍNDICE

2	Listado de abreviaturas	- 3 -
3	Resumen.....	- 3 -
4	Introducción y antecedentes.....	- 4 -
5	Objetivos	- 4 -
6	Metodología	- 5 -
7	Resultados y discusión.....	- 5 -
7.1	Timidilato sintasa (TS).....	- 5 -
7.2	Inhibición de la ts que se unen al sitio del dUMP	- 7 -
7.2.1	5-FU y floxuridina.....	- 7 -
7.2.2	Mecanismo de inhibición del 5-FdUMP	- 9 -
7.2.3	Consecuencias de la inhibición de TS.....	- 10 -
7.2.4	Fármacos derivados del 5-FU	- 12 -
7.2.5	Modulación de la actividad del 5-FU	- 14 -
7.2.6	Trifluridina	- 17 -
7.3	Inhibidores de la timidilato sintasa basados en la estructura del folato.....	- 17 -
7.3.1	Compuestos dependientes de RFC y FPGS	- 18 -
7.3.2	Compuestos que únicamente dependen del RFC	- 19 -
7.3.3	Compuestos que no dependen ni del RFC ni de la FPGS	- 19 -
8	Conclusiones	- 19 -
9	Bibliografía	- 20 -

2 LISTADO DE ABREVIATURAS

Abreviatura	Nombre completo
5,10-CH ₂ THF	5,10-metiléntetrahidrofólico
5-FdUMP	5-fluorodesoxiuridínmonofosfato
5-FdUTP	5-fluorodesoxiuridíntrifosfato
5-FU	5-fluorouracilo
5-FUdR	Floxuridina
ADN	Ácido desoxirribonucleico
CDHP	5-Cloro-2,4-dihidroxipiridina
dATP	Desoxiadenosíntrifosfato
DHF	Dihidrofolato
DHFU	Dihidrofluorouracilo
DPD	Dihidropirimidina deshidrogenasa
dTTP	Desoxitimidíntrifosfato
dUMP	Desoxiuridínmonofosfato
FPGS	Folipoliglutamato sintasa
LV	Leucovorina
MFR o α -FR	Receptor membranal de folatos
PRPP	Fosforribosil pirofosfato
RFC	Transportador de folatos reducidos
THF	Ácido tetrahidrofólico
TMP	Timidínmonofosfato
TP	Timidina fosforilasa
TS	Timidilato sintasa

3 RESUMEN

La timidilato sintasa es una enzima clave en la síntesis del ADN, ya que aporta al organismo la Timina que la célula necesita en una reacción en la que el uracilo es transformado en Timina, siendo esta la única ruta biosintética en la que la Timina es sintetizada por el organismo, por ello, esta enzima es de vital importancia en la supervivencia celular.

Una de las formas de tratamiento del cáncer es la inhibición de la timidilato sintasa, ya que desempeña un papel fundamental en la síntesis de la Timina, componente fundamental del ADN, por ello, se han desarrollado diferentes compuestos que interaccionan con esta enzima, inhibiéndola y, de esta forma, aplicar un tratamiento enfocado para el cáncer. En la actualidad hay una serie de compuestos que están destinados a inhibir la timidilato sintasa, los cuales lo pueden hacer uniéndose al sitio que ocupa el sustrato en la Enzima o bien, uniéndose al lugar donde será insertado el cofactor

para que pueda realizar la enzima su función. Con estos compuestos, se están tratando diversos tipos de cánceres, como puede ser de colon, de mama o de hígado, entre otros.

En la actualidad se están investigando numerosas moléculas con actividad contra esta enzima. Gracias a las avanzadas tecnologías, las cuales se están actualizando constantemente, permite la búsqueda de nuevas moléculas que mejoren las prestaciones de las que se emplean actualmente.

4 INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

El cáncer es un término que se emplea para englobar numerosas enfermedades caracterizadas por la pérdida de control del crecimiento, división y propagación de un número determinado de células, originando lo que se denomina como tumor primario, el cual va a invadir y destruir los tejidos adyacentes. Este tumor primario puede ser propagado a diferentes lugares del organismo en un proceso que se llama metástasis, invadiendo otros tejidos alejados del tumor principal, denominados tumores secundarios, siendo esto la causa del 90% de las muertes originadas por esta enfermedad.

El cáncer es una de las enfermedades más difíciles de tratar y es la responsable de un 13% de las defunciones totales que hay en el mundo, además la prevalencia de este no deja de aumentar, debido a que estos procesos cancerosos son más frecuentes en la población de edad avanzada, reflejo de lo que está ocurriendo ahora mismo en el mundo, donde hay un envejecimiento de la población en la mayoría de países, siendo este más notorio, en los países desarrollados.

El origen del cáncer está dictado, normalmente, por mutaciones genéticas; las rutas metabólicas de las células cancerosas son tan complejas como lo son las de una célula normal, por ello, se abordan desde distintos puntos de vista un tratamiento para combatir los distintos tipos de cáncer.

5 OBJETIVOS

En este trabajo se va a proceder a valorar aquellos compuestos que interaccionan con la timidilato sintasa (TS), enzima presente en todas las células, tanto normales, como cancerosas, jugando un papel muy importante en la síntesis de precursores del ADN, como es la timina y, por lo tanto, en el ciclo celular, por lo que se va a observar qué ocurre

cuando esta enzima es inhibida y sus consecuencias, los posibles usos de los fármacos y sus ventajas e inconvenientes.

6 METODOLOGÍA

Este trabajo es una revisión bibliográfica de varios artículos científicos extraídos de fuentes secundarias, como puede ser PubMed, entre otros. También se han consultado una serie de libros, centrándose este trabajo sobre todo en el “Medicinal Chemistry of Anticancer Drugs”¹ del que se ha realizado una valoración centrándose en el tema en cuestión, la inhibición de la enzima timidilato sintasa y las consecuencias que esto conlleva, así como las utilidades terapéuticas.

7 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La timidilato sintasa es una enzima que cataliza la transformación de uracilo en Timina, siendo esta una de las etapas limitantes en la síntesis de los precursores del ADN; esta transformación se debe a la implementación de un grupo metilo en la estructura del uracilo, el cual proviene del cofactor 5,10-metilentetrahidrofólico. La timidilato sintasa (TS) tiene una estructura dimérica, originada por un puente disulfuro gracias a un residuo de cisteína, poseyendo dos sitios de unión, uno para el sustrato y otro para el cofactor.

Un antimetabolito puede ser definido como un análogo de un compuesto natural que interfiere o reemplaza la acción del compuesto endógeno, por lo que interferirá en su ruta biosintética; se han conseguido desarrollar numerosos antimetabolitos que interfieren en distintas rutas biosintéticas, en este trabajo se procederá a evaluar varios de estos compuestos que interfieren en el mecanismo de la TS.

7.1 TIMIDILATO SINTASA (TS)

La TS es la enzima que se encarga de sintetizar mediante síntesis de novo la base púrica timina a partir del uracilo gracias al cofactor 5,10-metiléntetrahidrofólico, donde este va a ceder un grupo metilo a la posición 5 del anillo pirimidínico, permitiendo de esta forma la transformación del compuesto.

La transformación del dUMP (desoxiuridínmonofosfato) a TMP (timidínmonofosfato) (**Fig. 1**) por la enzima timidilato sintasa sigue un proceso en el cuál el dUMP, sustrato natural de la enzima, va a ser reconocido por el sitio de unión de la enzima, provocando que esta cambie de conformación, permitiendo así la entrada del cofactor, ejerciendo su función de donador de grupos metilo para la transformación del compuesto.

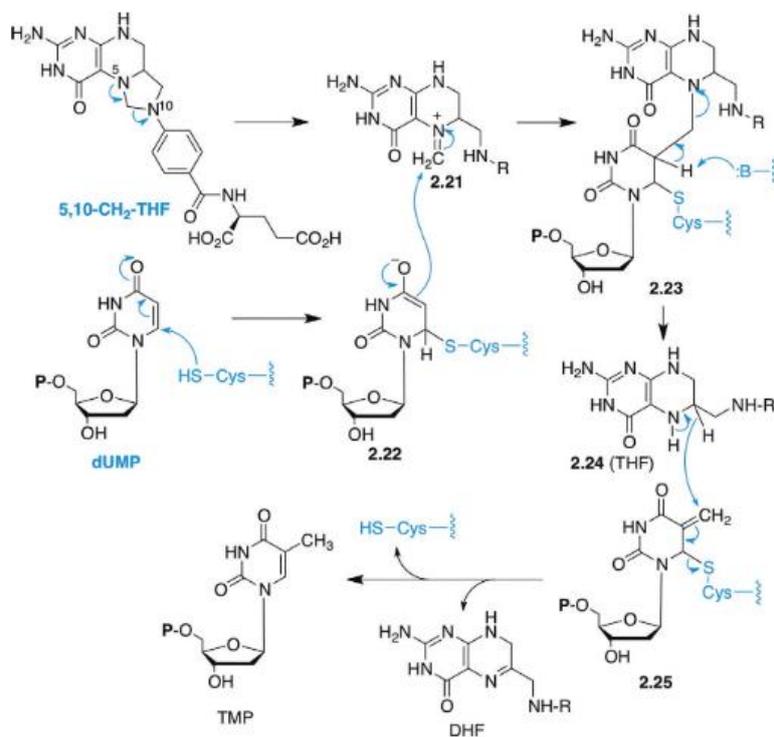
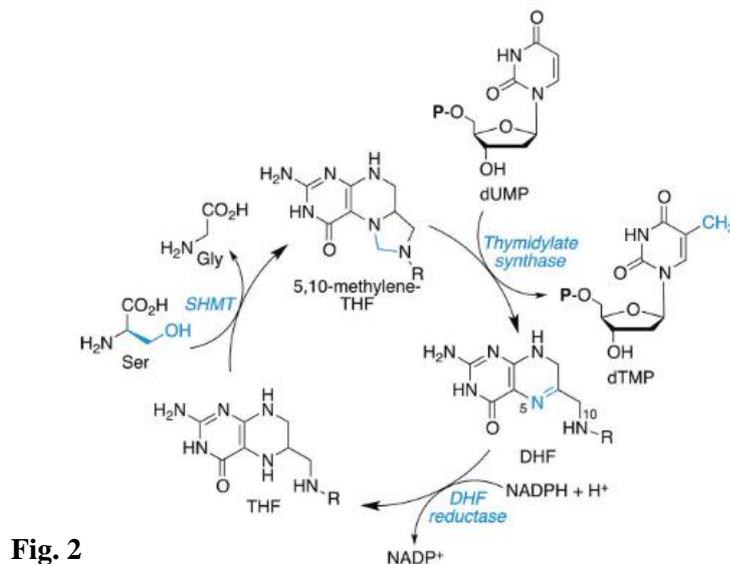


Fig. 1

Una vez sintetizado el TMP, este será sustrato a su vez de la enzima ADN polimerasa, previa activación de este, que es la encargada de sintetizar el ADN.

El cofactor 5,10-metilén-THF en esta reacción es transformado en el dihidrofolato (DHF), el cual entra en un ciclo, que permite su transformación otra vez en el 5,10-metilén-THF gracias a la cadena enzimática que se muestra a continuación, para así volver a emplearse en la misma reacción de transformación del dUMP (**Fig. 2**).

Tras observarse el mecanismo de acción de esta enzima, se comenzaron a desarrollar una serie de compuestos químicos que inhibían esta enzima, denominados como antimetabolitos.



La enzima, que juega un papel importante en el ciclo celular debido a que es la encargada de sintetizar la TMP, uno de los nucleótidos presentes en la estructura del ADN, va a ser la diana terapéutica para determinados tipos de cáncer, donde el metabolismo de estas células está aumentado y descontrolado. Gracias a esto, se ha podido desarrollar una selectividad hacia estos tipos celulares, ya que su mayor requerimiento metabólico, exigirá un mayor aporte de nutrientes, por lo que los antimetabolitos administrados irán a parar a las células que lo requieran, siendo las cancerosas el principal destino de estos, acumulándose entonces en estos tipos celulares, consiguiéndose así una selectividad, por lo que en las células sanas no se acumulará tanta concentración de antimetabolito, disminuyendo así su toxicidad.

Estos compuestos son sustancias análogas al sustrato natural, los cuales van a interferir o reemplazar la acción del sustrato endógeno, produciendo una respuesta diferente a la que realiza esta molécula.

7.2 INHIBICIÓN DE LA TS QUE SE UNEN AL SITIO DEL dUMP

7.2.1 5-FU y floxuridina

El 5-FU fue el primer antimetabolito empleado como inhibidor de la TS.

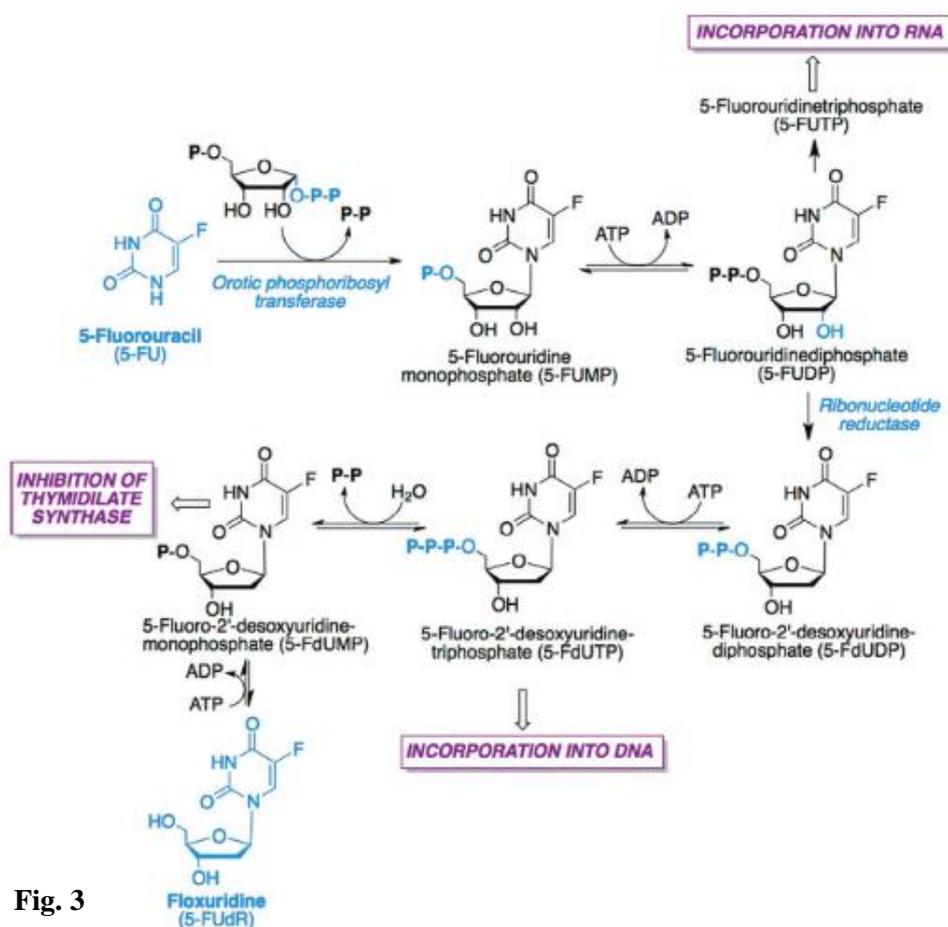
El 5-fluorouracilo (5-FU) es un profármaco que actúa como un antimetabolito, y penetra en la célula mediante un mecanismo de transporte facilitado, que es el mismo que utiliza el uracilo para entrar en la célula; esto es debido a la analogía entre las dos moléculas que, al ser de forma y tamaño similares, el transportador reconoce al 5-FU como si fuera una

molécula endógena, por lo que pasa al interior celular. Tras la administración del 5-FU, va a generarse un mecanismo de competición entre el uracilo y el 5-FU, donde el compuesto de mayor concentración penetrará al interior celular en mayor cantidad, en detrimento del que esté en menor concentración.

Además, hay que recordar, que las células cancerosas requieren de una mayor cantidad de aporte de nutrientes debido a su elevado metabolismo, por lo que este mecanismo de transporte estará aumentado, acumulándose más 5-FU en el interior de estas células que en las células sanas.

Para que el 5-FU inhiba a la TS por su mecanismo de acción, primero debe bioactivarse mediante una serie de reacciones (**Fig 3**).

El 5-FU se acaba transformando en el 5-Fluoro-2'-desoxiuridínmonofosfato (5-FdUMP), que es la forma activa del fármaco, es decir, la que realmente va a ser reconocido por la TS y de esa forma, poder inhibirla.



Hay que mencionar que esta ruta de bioactivación que sigue el 5-FU, es la misma que sigue el uracilo, el sustrato endógeno, donde tiene que transformarse en el nucleótido

(dUMP) para posteriormente transformarse en la timidina por la acción de la TS, dicho de otra forma, el 5-FU utiliza las mismas enzimas para bioactivarse que las que emplea el sustrato endógeno.

La floxuridina (5-FuR), es otro profármaco que se encarga también de inhibir a la TS; requiere un proceso de bioactivación mucho más sencillo que el 5-FU, donde únicamente tiene que fosforilarse para transformarse en el 5-FdUMP, que se encargará de inhibir la TS.

7.2.2 Mecanismo de inhibición del 5-FdUMP

Una vez los profármacos han sido bioactivados, estos ya van a poder ser reconocidos por el sitio de reconocimiento de la enzima TS en vez de su sustrato endógeno; una vez reconocidos, la enzima sufre un cambio conformacional, que provoca la apertura de un lugar adyacente en la enzima para que se una el cofactor 5,10-Metiléntetrahidrofólico (5,10-CH₂THF), el cual es necesario para el funcionamiento de la misma. Una vez unido este compuesto, da comienzo la reacción por un mecanismo de acción diferente al que ocurría con el sustrato endógeno (Fig. 4).

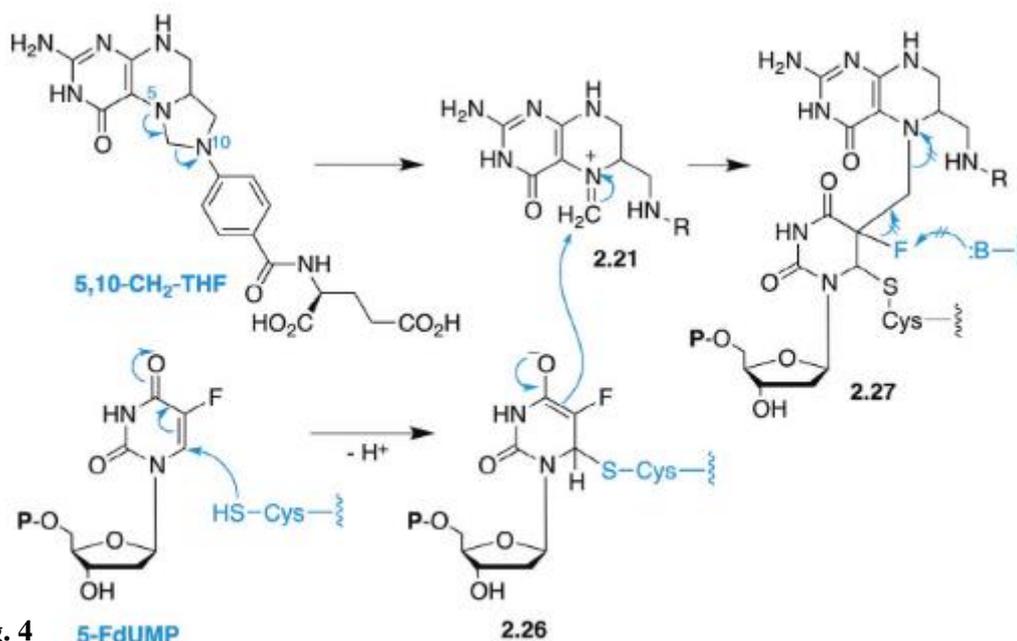


Fig. 4 5-FdUMP

El comienzo de la reacción es igual que la que sufre el sustrato endógeno, donde un residuo de cisteína presente en el sitio activo de la enzima, ataca a la posición 2 de la pirimidina mediante una adición de Michael. Debido a esta adición de Michael, C5 ataca al catión metilénimino del cofactor, observándose la formación de un complejo terciario que engloba a la enzima (TS), al fármaco (5-FdUMP) y al cofactor (5,10-CH₂THF),

siendo este irreversible. Esto es debido a que la TS no puede liberarse del enlace formado debido a la presencia del F, donde no se da lugar al ataque por el centro básico de la enzima, siendo esta la principal diferencia que hay entre el antimetabolito y el sustrato endógeno, donde en vez de haber un F, hay un H (dUMP), el cual era atacado por la base de la enzima, provocando la liberación del cofactor del complejo ternario originado previamente.

Esta reacción de inhibición es posible gracias al F presente en la posición 5 de la pirimidina. Este átomo posee un tamaño muy similar al del H, lo que permite al fármaco unirse a la TS en el mismo sitio de unión que el dUMP con la misma afinidad, además gracias a la electronegatividad de este, va a permitir un aumento en la electrofilia del carbono insaturado situado en 6, es decir, se facilita la Adición de Michael en el 5-FdUMP; por otro lado, se va a impedir que el complejo ternario se libere, quedando inhibida la enzima, ya que el centro básico de esta, no puede atacar.

El resultado final es la formación del complejo ternario Enzima-Fármaco-Cofactor, por lo que la acción de la TS queda inhibida, lo que conlleva una serie de repercusiones que se abordarán más adelante.

Tras la formación del complejo ternario, el fármaco deja de poseer actividad, por lo que se le denomina como un inhibidor suicida, ya que ejerce su acción y permanece inactivado debido a los enlaces covalentes formados.

7.2.3 Consecuencias de la inhibición de TS

Al inhibirse la TS se van a desencadenar una serie de mecanismos, como la depleción del TMP al no poder sintetizarse este, debido a esto, el dTTP, el nucleótido precursor del ADN, tampoco va a sintetizarse, provocando una alteración en el balance de los nucleótidos, como en el dATP/dTTP, entre otros, por lo que va a haber una alteración en los mecanismos de síntesis y reparación del ADN debido a la ausencia de Timina, muriendo finalmente la célula por muerte atimínica.

Otro mecanismo de toxicidad alternativo (**Fig. 5**) a la inhibición de la TS es que el 5-FdUMP, en vez de inhibir la enzima, sigue otra ruta distinta, trifosforilándose (5-FdUTP) y actuando como sustrato de la ADN polimerasa, incorporándose al ADN donde, al no ser sustrato natural va a provocar la desestabilización de la molécula y consecuente ruptura de la cadena, actuando como agente mutágeno y provocando la muerte celularⁱⁱ.

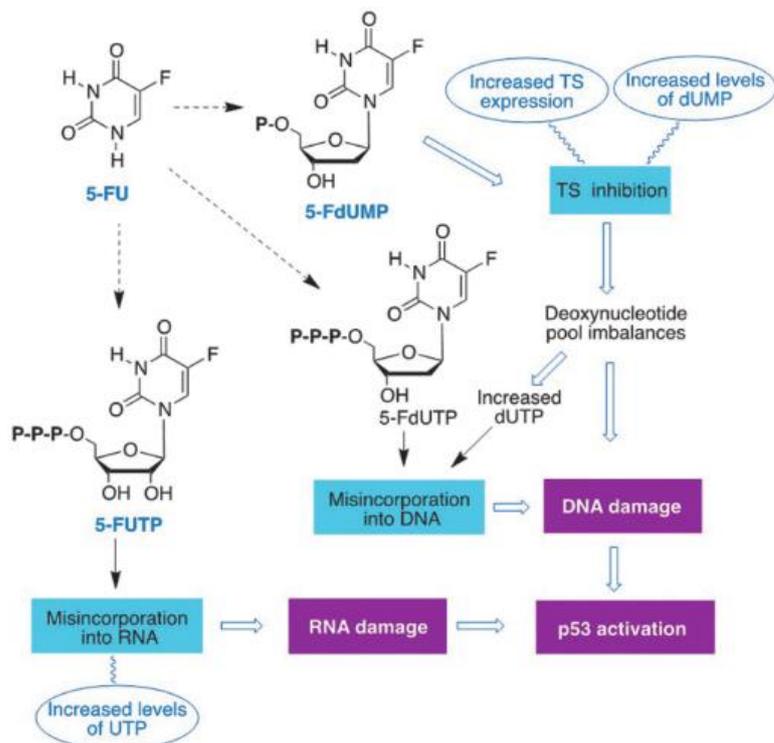


Fig. 5

Debido a la acumulación del dUMP al estar inhibida la enzima que lo transforma en TMP, se puede llegar a trifosforilar (dUTP), la ADN polimerasa lo va a incorporar al ADN, formando parte de su estructura, lo que provoca que, al no ser un componente natural de este, implique una desestabilización de la doble hélice, desencadenando su ruptura por las enzimas reparadoras.

Las incorporaciones de los metabolitos del 5-FU al ADN y la inhibición de la TS, van a provocar una estabilización del p53, el denominado como guardián del genoma, que normalmente se encuentra inhibido en la mayoría de cánceres y, por ello, aparece ese descontrol del ciclo celular, característico de las células cancerosas.

Entre las funciones del p53 se encuentran la de supresor tumoral, provocando la apoptosis en aquellas células en las cuales el ciclo celular esté alterado, como ocurre en las células cancerosas, es decir, cuando esta proteína detecta una anomalía en el ciclo celular, va a activar los mecanismos apoptóticos en la célula, provocando la muerte celular. En los cánceres, esta proteína queda inhibida debido a la activación de distintos oncogenes.ⁱⁱⁱ

7.2.4 Fármacos derivados del 5-FU

Tras el descubrimiento del 5-FU, se han llevado numerosas investigaciones y formulaciones para mejorar la posología del 5-FU, ya que este requiere de administración intravenosa, por lo que se han llegado a desarrollar una serie de compuestos que permiten su administración por vía oral.

El **ftorafur (Tegafur®)** fue el primero que se sintetizó, se absorbe en el tracto gastrointestinal y, una vez absorbido, se va a transformar en el 5-FU mediante un mecanismo que puede ser mediado por dos rutas diferentes.

Este profármaco causaba problemas digestivos, además de cardíacos, en algunos pacientes, siendo reemplazado por alternativas mucho mejores.

En determinados tipos de tumores, como el colorrectal o en el cáncer de riñón, había una enzima sobreexpresada, esta era la timidina fosforilasa (TP), aprovechando la sobreexpresión de esta enzima, se desarrolló un fármaco que fuera bioactivado por esta enzima, de esta forma, permitiría tener una buena selectividad hacia esos tumores. Este compuesto era un profármaco, que se denominó como **doxifluridina** y que, tras activarse por la TP se transforma en el 5-FU. La doxifluridina se administra vía oral, pero se observó como efectos adversos que provocaba diarrea, ya que en el tracto gastrointestinal se liberaba el 5-FU por la enzima intestinal pirimidina nucleósido fosforilasa.

La doxifluridina no llegó a ser útil, pero gracias a su capacidad de ser activado específicamente en las células tumorales una vez que absorbido, se procedió a desarrollar otra serie de compuestos muy similares a este.

Se descubrió entonces la **capecitabina**, un profármaco destinado a bioactivarse en las células tumorales y que no genera los problemas que tiene la doxifluridina; esto es debido a su elevada lipofilia, que hace que sea absorbido sin sufrir ninguna alteración, pasando al torrente sanguíneo.

La bioactivación de este compuesto ocurre gracias a un proceso enzimático en el que participan 3 enzimas diferentes y que va a ocurrir en dos lugares del organismo diferentes (Fig. 6).

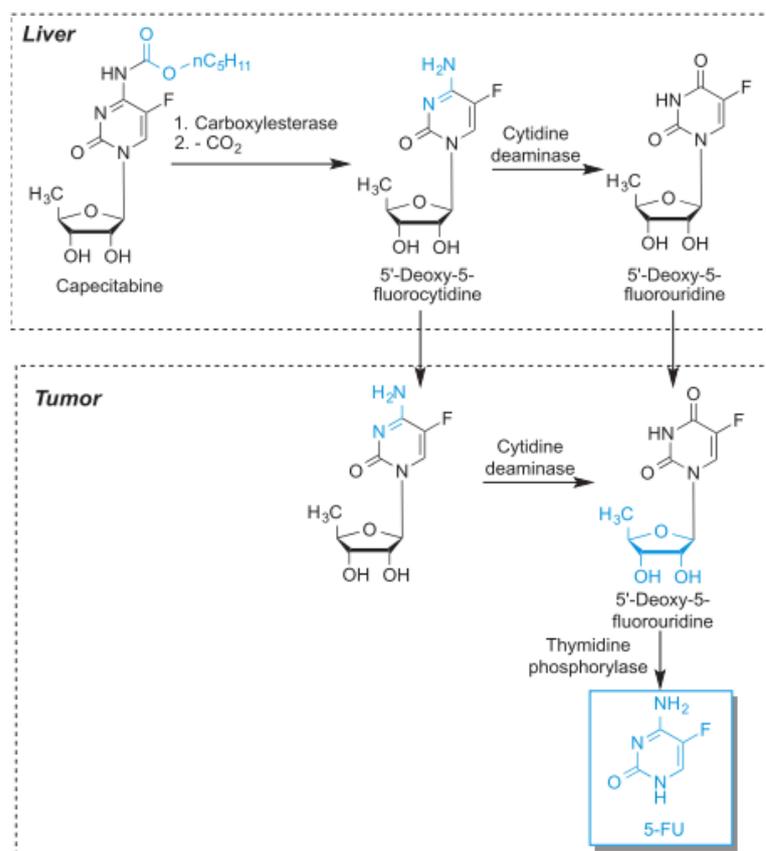


Fig. 6

En el primer paso interviene la enzima carboxilesterasa, la cual solamente se presenta en el hígado, posteriormente ocurre una descarboxilación de manera espontánea y, a continuación, va a intervenir en el proceso de bioactivación la segunda enzima, una citidina desaminasa, que va a encargarse de transformar el grupo amino en un grupo carbonilo en la posición 4 de la pirimidina y se encuentra tanto en el hígado, como en la célula tumoral. La última reacción, donde se elimina la pentosa del compuesto, transformándose así en el 5-FU, tiene lugar mayoritariamente en las células tumorales, ya que su bioactivación es 10 veces más eficiente que en las células normales.

Se han realizado estudios farmacocinéticos y se ha observado que, con la capecitabina, una vez transformado en el 5-FU hay bajas concentraciones sistémicas de este y una elevada concentración del mismo en el tumor, que es mayor que la que aparece con dosis iguales de 5-FU administrados vía IV.

7.2.5 Modulación de la actividad del 5-FU

La actividad del 5-FU se ha conseguido modular gracias a 3 mecanismos diferentes, los cuales son:

7.2.5.1 Disminuir la degradación del 5-FU

Cuando se administra la dosis de 5-FU (vía parenteral), más del 80% de este es degradado por la enzima dihidropirimidina deshidrogenasa (DPD) que se encuentra en el hígado; esta enzima es la encargada de reducir el doble enlace de la posición 5 de la pirimidina, provocando que el 5-FU pierda su actividad y originando el producto conocido como dihidrofluorouracilo (DHFU), el cual es inactivo, ya que, una vez que se le añadiera la fosforribosa, va a ser incapaz de que se produzca la adición de Michael para que dé comienzo la inhibición de la TS, debido a que carece de ese doble enlace (**Fig. 7**).

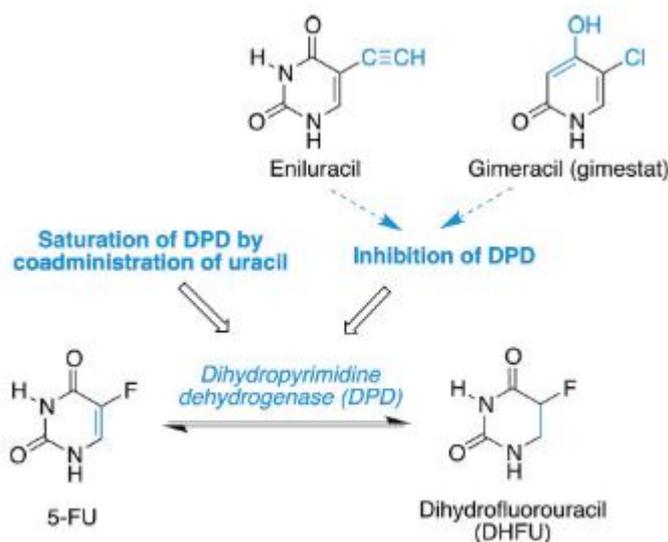


Fig. 7

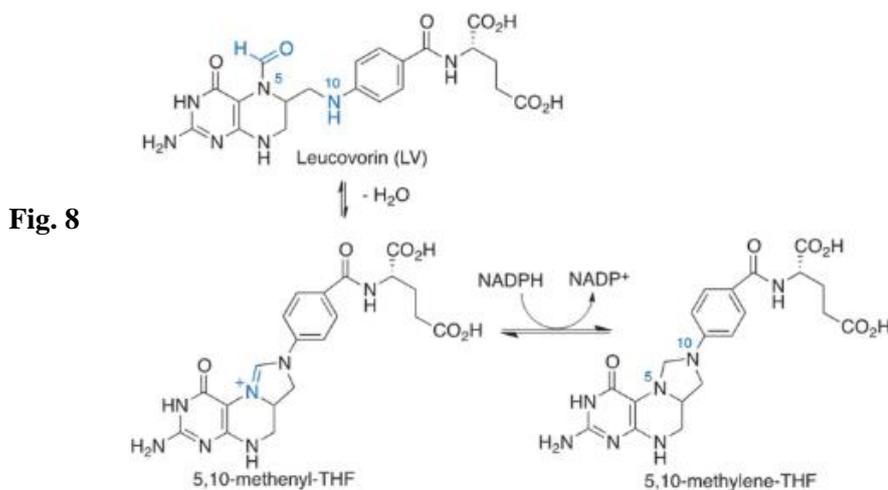
- Administración de uracilo junto al 5-FU, compitiendo el sustrato natural con el fármaco, y provocando de esta forma, la saturación de esta, además, el uracilo al ser el sustrato endógeno, la enzima tiene mayor selectividad hacia este, por lo que el fármaco quedaría exento de ser metabolizado y, por lo tanto, inactivado. Hay un fármaco que se denomina UFT, que es la combinación en proporción 4:1 de uracilo:tegafur, además también se ha empleado junto a la leucovorina (ácido folínico)^{iv}
- Inhibición de la enzima DPD con compuestos como pueden ser la 5-cloro-2,4-dihidroxipiridina (CDHP), gimestat, gimeracilo o el eniluracilo (5-etiniluracilo). Lo que se hace con estos compuestos es que se administran junto al 5-FU o, en vez de emplear este, se utiliza el UFT; anteriormente mencionado.

7.2.5.2 Aumentar su potencia como inhibidor de la TS

Para que se produzca una correcta inhibición de la TS, es necesario que el cofactor esté presente, el 5,10-CH₂THF, por eso, la administración del cofactor junto al 5-FU va a provocar una mayor citotoxicidad en las células diana. La leucovorina o ácido folínico se va a transformar en el organismo en el cofactor necesario para que se produzca la inhibición de la enzima TS (**Fig. 8**).

Este profármaco se emplea junto al 5-FU o junto al Tegafur; en ensayos clínicos con ratones, se observaron que la combinación de estos producía una mejor respuesta que cuando se utilizaban estos en monoterapia. Como primera línea de elección está la combinación de 5-FU, leucovorina e irinotecan u oxaliplatino en el tratamiento del cáncer colorrectal y en el cáncer de páncreas con metástasis.^v

La leucovorina entra a la célula mediante el transportador del folato reducido, que es la misma enzima que emplea el sustrato endógeno; es metabolizada a 5,10-CH₂-THF sin la necesidad de la dihidrofolato reductasa, mediante una sencilla reducción, donde el catión iminio es reducido por el cofactor NADPH.



7.2.5.3 Optimización en la activación del 5-FU

Para poder mejorar la activación del 5-FU en el componente que tiene verdaderamente actividad, que es el 5-FdUMP, se propuso un pretratamiento con metotrexato, el cual es un antifolato, observándose que la potencia del 5-FU aumentaba; esto es debido a que el metotrexato inhibe la síntesis del ácido tetrahidrofólico (THF), que a su vez participa en algunas etapas de la síntesis de purinas, provocando la acumulación del fosforribosil pirofosfato (PRPP), siendo este esencial para la activación del 5-FU, ya que mediante esta ruta se obtienen las fosforribosas que posteriormente se unirán a las bases púricas, en este caso, al 5-FU para lograr bioactivarse (**Fig. 9**).

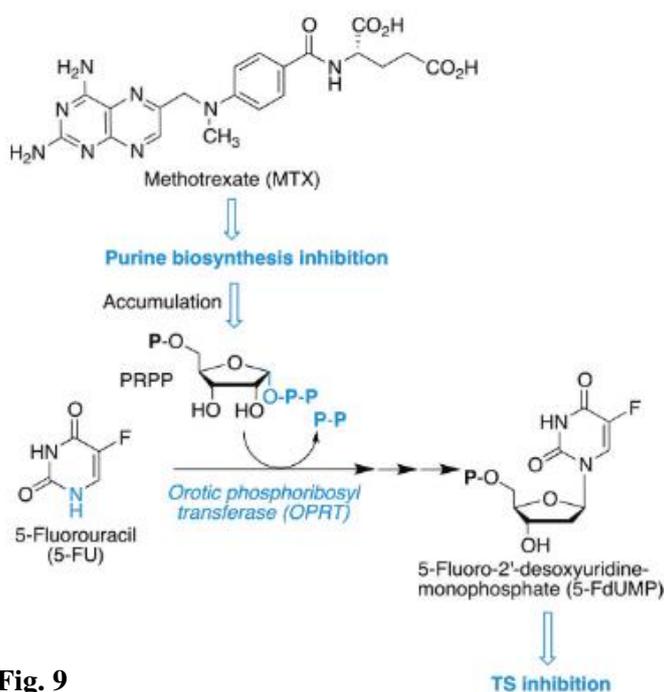


Fig. 9

Al inhibirse el THF por acción del metotrexato, se ven disminuidos a su vez los niveles del 5,10-CH₂-THF al ser este compuesto derivado del THF, que es el cofactor empleado por la TS para poder tanto transformar el uracilo en timina, como para que se pueda inhibir la enzima por la formación del complejo ternario junto al 5-FdUMP, por ello, en un principio se podría llegar a pensar que la eficacia en la inhibición de la enzima estaría disminuida.

7.2.6 Trifluridina

La trifluridina, trifluorotimidina o TFT es un fármaco que se emplea para el tratamiento del herpes a nivel ocular, ya que se incorpora al DNA viral; además, también es un inhibidor de la TS gracias a un mecanismo de acción muy similar al que emplea el 5-FU debido a su analogía (**Fig. 10**).

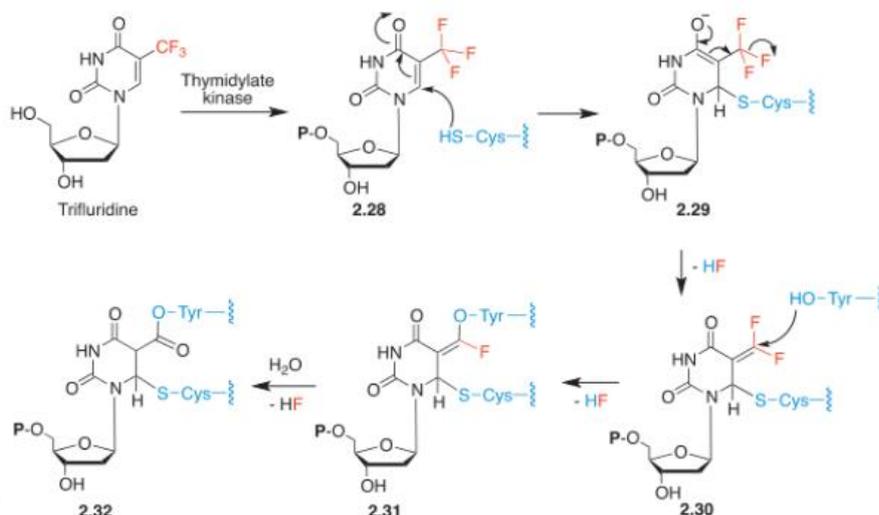


Fig. 10

Administrado por vía oral, la trifluridina sufre un efecto de primer paso muy marcado por la enzima timidina fosforilasa intestinal, y lo transforma en un compuesto inactivo; debido a esto, se administra la trifluridina acompañado del tipiracil hidrocloreto, ya que este es un inhibidor de la timidina fosforilasa, evitando así la metabolización de la TFT en el intestino; a esta combinación de fármacos se le conoce como Lonsurf® y está indicado en pacientes que han tenido tratamientos previos o que no se les considere candidatos al tratamiento con terapias disponibles, incluidas quimioterapia basada en fluoropirimidinas, oxaliplatino e irinotecán, agentes anti-VEGF y agentes anti-EGFR.^{vi}

7.3 INHIBIDORES DE LA TIMIDILATO SINTASA BASADOS EN LA ESTRUCTURA DEL FOLATO

Hasta ahora se han visto los distintos inhibidores de la enzima timidilato sintasa que se unían al sitio del sustrato, es decir, al sitio del dUMP.

Los inhibidores de la TS basados en la estructura del folato se desarrollaron debido a los problemas que generaban las fluoropirimidinas, sobre todo por mecanismos de resistencia; la competición del 5-FdUMP con el sustrato endógeno, como es el dUMP, provocaba que se acumulara este y, al haber una competición por el sitio de acción, finalmente repercutía en una disminución de la potencia del antitumoral, entre otros. Por ello, se comenzaron a desarrollar fármacos análogos al cofactor que utiliza la TS, el 5,10-

CH₂-THF. Estos fármacos se pueden incluir en el grupo de los inhibidores específicos de la TS.

Debido a la novedad de esta vía de tratamiento, se siguen investigando compuestos en la actualidad, que se sumarán a los 4 que se emplean en la actualidad en algunos tratamientos, como son el raltitrexed, pemetrexed, nolatrexed y plevitrexed, una vez finalicen las etapas de ensayos clínicos y superen los requerimientos pertinentes.

Estos 4 fármacos son modificaciones de la estructura del ácido fólico y se pueden englobar en 3 grupos (**Fig. 11**).

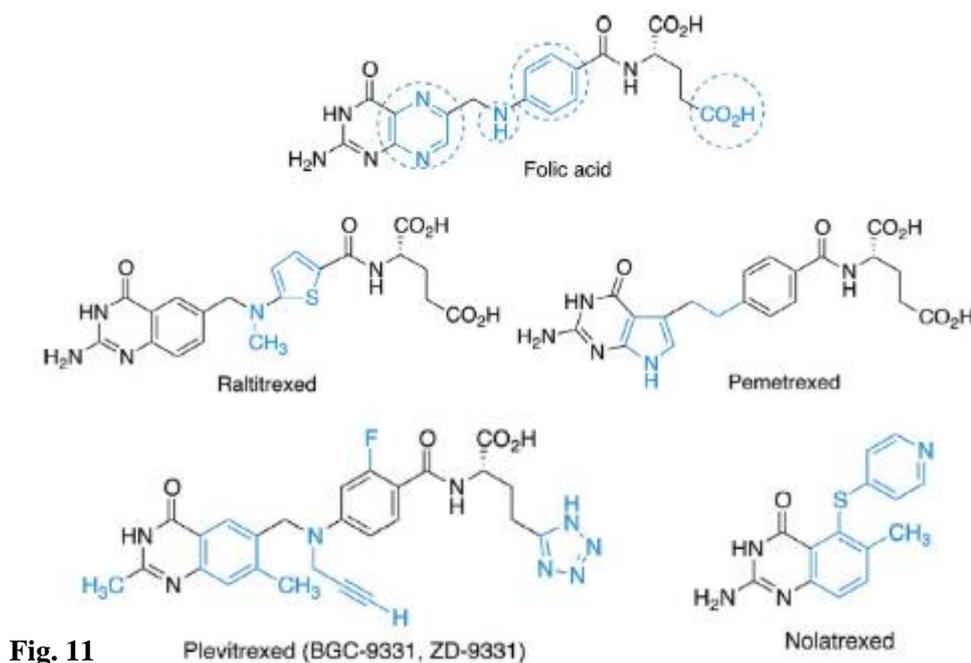


Fig. 11

Plevitrexed (BGC-9331, ZD-9331)

7.3.1 Compuestos dependientes de RFC y FPGS

El compuesto denominado como raltitrexed, fue el primer inhibidor de la TS que se une a la zona del cofactor. Está aprobado para su uso clínico y está destinado para terapias de cáncer colorrectal avanzado.

En su estructura hay dos modificaciones bioisostéricas. El raltitrexed es transportado al interior celular por el RFC, para su bioactivación la FPGS transforma el residuo terminal del glutamato en una cadena poliglutamada, provocando que la potencia de su inhibición aumente, además de permitir la retención del compuesto en el interior de la célula, por lo que el tiempo de acción en el lugar será mayor.

El raltitrexed está indicado en el tratamiento paliativo del cáncer colorrectal avanzado cuando la terapia de 5-FU+LV es inaceptable o inapropiada para el paciente.^{vii}

7.3.2 Compuestos que únicamente dependen del RFC

El plevitrexed es un potente inhibidor de la TS, se encuentra en una etapa muy avanzada de estudios clínicos, mostrándose resultados eficaces en el tratamiento de cáncer de ovario, de páncreas y gástrico. Se observó que el grupo alquilo que tiene en 7 y el F que se ubica en 2', provocaban un aumento tanto en la afinidad, como en la actividad.

7.3.3 Compuestos que no dependen ni del RFC ni de la FPGS

El nolatrexed atraviesa la célula por difusión pasiva, además al no poliglutamarse, no queda retenido en las células, por lo que este fármaco requiere de un tiempo de infusión más prolongada. Este fármaco se encuentra en ensayos clínicos, concretamente en la fase II de estos, mostrando una notable actividad contra adenocarcinoma pancreático, carcinoma hepatocelular entre otros. La EMA ya ha aceptado al nolatrexed para el tratamiento del carcinoma hepatocelular.

El problema de estos compuestos es que el RFC está presente tanto en las células normales, como en las tumorales; debido a esto, hay elevada toxicidad en determinados tipos de cáncer, siendo contraproducente el empleo de estos fármacos. La alfa isoforma del receptor membranal de folatos (MFR o α -FR) en algunos tipos de cáncer está sobreexpresado, que también ocurre si las concentraciones de folato son muy bajas, por lo que se puede aprovechar esta característica, ya que algunos fármacos de estas características, emplean el MFR en vez del RFC, por lo que son mejor tolerados.

El MFR se ha observado que está sobreexpresado en tumores epiteliales, como pueden ser los tumores de ovario.

Las estructuras con ciclopenta[g]quinazolina se ha observado que tiene actividad inhibitoria de la TS y una buena selectividad MFR/RFC, por lo que se está indagando en su investigación para conseguir la obtención de un fármaco de estas características .

8 CONCLUSIONES

Tras la evaluación de las principales moléculas inhibidoras de la enzima TS, además de algunas otras que están en avanzadas etapas de ensayos clínicos, se ha podido observar la importancia de estos compuestos en el tratamiento de diversos cánceres, así como los tratamientos alternativos cuando alguno de los tratamientos habituales fallan, o incluso el empleo de diferentes fármacos que intervengan en diferentes rutas metabólicas, potenciando así su efecto antitumoral.

En esta línea de tratamiento se siguen investigando compuestos y, gracias a las avanzadas técnicas que hay en la actualidad, permiten evaluar grandes colecciones de compuestos químicos en un breve periodo de tiempo, obteniéndose así determinadas moléculas que son biológicamente activas frente a la diana en cuestión, las cuales pueden llegar a ser un fármaco en un futuro tras los pertinentes ensayos clínicos, agilizando así los procesos de búsqueda de moléculas útiles.

9 BIBLIOGRAFÍA

i Carmen Avendaño and J. Carlos Menéndez., «Medicinal Chemistry of Anticancer Drugs - 2nd Edition».

ii Schaich et al., «Structures of a DNA Polymerase Inserting Therapeutic Nucleotide Analogues».

iii Matsushashi et al., «p53 dependence and apoptosis in response to FP treatment with p53-transfected colon cancer cell lines by use of thin layer collagen gel».

iv Saiura et al., «A Combination of Oral Uracil-Tegafur plus Leucovorin (UFT + LV) Is a Safe Regimen for Adjuvant Chemotherapy after Hepatectomy in Patients with Colorectal Cancer».

v «Tratamiento paliativo del cáncer colorrectal - PDF».

vi «IPT-trifluridina-Lonsurf-cancer-colorrectal.pdf».

vii « Ficha Técnica de raltitrexed Tomudex®.pdf».