



**FACULTAD DE FARMACIA  
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO:  
ANTITUMORALES INHIBIDORES  
DE LA TIMIDILATO SINTASA**

Autor: MIGUEL QUIRALTE PULIDO

Fecha: JUNIO 2019

Tutor: NIEVES CABEZAS BAUDOT

# ÍNDICE

---

<b>1. ABREVIATURAS</b>	<b>3</b>
<b>2. RESUMEN</b>	<b>4</b>
<b>3. ABSTRACT</b>	<b>4</b>
<b>4. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES</b>	<b>5</b>
<b>5. OBJETIVOS</b>	<b>6</b>
<b>6. METODOLOGÍA</b>	<b>6</b>
<b>7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>7</b>
7.1. TIMIDILATO SINTASA	7
7.2. INHIBIDORES DE LA TS QUE SE UNEN AL SITIO DE dUMP	9
7.2.1. 5-FLUOROURACILO Y FLOXURIDINA	9
7.2.2. PROFÁRMACOS DEL 5-FLUOROURACILO	13
7.3. INHIBIDORES DE LA TS ANÁLOGOS DEL ÁCIDO FÓLICO	15
<b>8. CONCLUSIONES</b>	<b>17</b>
<b>9. BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>18</b>

# 1. ABREVIATURAS

---

5'-dFCyd, 5'-deoxi-5-fluorocitidina

5,10-CH<sub>2</sub>-THF, ácido 5,10-metilentetrahidrofólico

5-FdUMP, 5-Fluoro-2'-desoxiuridina monofosfato

5-FU, 5-Fluorouracilo

CDHP, 5-cloro-2,4-dihidroxipiridina

dUMP, Desoxiuridina monofosfato

DHFU, Dihidrofluorouracilo

DHF, Dihidrofolato

DHFR, Dihidrofolato reductasa

DPD, Dihidropirimidina deshidrogenasa

FPGS, Folipoliglutamato sintetasa

GARFT, Glicinamida ribonucleótido formiltransferasa

LV, Leucovorina

SHMT, Serin-hidroximetil transferasa

THF, Tetrahidrofolato

TMP, Timidina monofosfato

TP, Timidina fosforilasa

TS, Timidilato sintasa

RFC, Transportador de folato reducido

PRPP, Fosforribosil pirofosfato

## 2. RESUMEN

---

“Cáncer” designa un amplio grupo de enfermedades que pueden afectar a cualquier parte del organismo (OMS).

El cáncer es la segunda causa de muerte en el mundo y en España es la primera causa de muerte si la ajustamos por edad, siendo la primera causa de muerte en hombres y la segunda en mujeres.

En estudios de biopsias de tejidos tumorales se ha observado una mayor utilización de uracilo por parte las células tumorales debido a una sobreexpresión de la enzima timidilato sintasa.

La timidilato sintasa es una enzima clave en el proceso de síntesis del ADN, ya que participa en la única ruta de síntesis de timina para la formación en la célula de *novo* ADN, transformando el uracilo en timina.

Se ha visto que los compuestos que inhiben esta enzima se comportan como agentes antitumorales.

Estos inhibidores han sido diseñados utilizando como modelo la dUMP, substrato de la enzima; o a partir del cofactor 5,10-metilentetrahidrofolato.

El inhibidor de la timidilato sintasa más importante es un compuesto de la familia de las fluoropirimidinas conocido como 5-Fluorouracilo, el cual desde que se desarrolló en la década de los 60 hasta día de hoy sigue siendo uno de los compuestos antitumorales más importantes que se han desarrollado y a pesar de sus efectos adversos continúa desempeñando un papel fundamental en la estrategia terapéutica de muchos tumores sólidos.

Con el paso del tiempo y los avances en la medicina se comenzaron a diseñar, a raíz del 5-Fluorouracilo; distintos compuestos que a pesar de seguir manteniendo el mecanismo de acción característico del 5-Fluorouracilo, mejoraban potencialmente sus características tanto farmacocinéticas como farmacodinámicas y acrecentaban el porcentaje de pacientes con cáncer de poder llegar a curarse.

## 3. ABSTRACT

---

"Cancer" means a broad group of diseases that can affect any part of the body (OMS).

Cancer is the second cause of death in the world and in Spain it is the first cause of death if we adjust it by age being the first cause of death in men and the second in women.

In studies of tumor tissue biopsies, increased use of uracil by tumor cells has been observed due to an overexpression of the enzyme thymidylate synthase.

Thymidylate synthase is a key enzyme in the synthesis process of our DNA, as it participates in the only thymine synthesis route for formation in the *novo* DNA cell, transforming uracil into thymine.

It has been found that compounds that inhibit this enzyme behave as antitumor agents.

These inhibitors have been designed having as model the dUMP, substrate of the enzyme; or from the cofactor 5,10-methylenetetrahydrofolate.

The most important thymidylate synthase inhibitor is a compound of the family of fluoropyrimidines known as 5-Fluorouracil, which has been one of the most important antitumor compounds since it was developed in the 1960s. have developed and despite its adverse effects continues to play a key role in the therapeutic strategy of many solid tumors.

With the passage of time and advances in medicine began to be designed, following the 5-fluorouracil; different compounds that despite continuing to maintain the mechanism of action characteristic of the 5-Fluorouracil, potentially improving its pharmacokinetic and pharmacodynamic characteristics and increasing the percentage of patients with cancer to be cured.

## 4. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

---

El cáncer es una enfermedad multifactorial que se caracteriza por el crecimiento anormal de las células de nuestro organismo.

Las células humanas se dividen para formar nuevas células y crecer a medida que el cuerpo lo necesita. Sin embargo en el cáncer este proceso se descontrola, las células se hacen más anormales y células dañadas o viejas que deberían morir, sobreviven y nuevas células se forman cuando no son necesarias. Estas células pueden dividirse sin interrupción dando lugar a masas que son las que llamamos tumores.

Los cambios genéticos que contribuyen a que aparezca la enfermedad afectan a tres tipos de genes: los proto-oncogenes que influyen en el crecimiento y división celular, los genes supresores de tumores y los genes reparadores del ADN.

Hay muchos tipos de tumores y se pueden clasificar en dos grupos: los tumores sólidos que son grandes masas de tejido, y los tumores hematológicos que son los que afectan a la sangre, médula ósea y ganglios linfáticos.

El cáncer sigue constituyendo una de las principales causas de morbi-mortalidad en el mundo, con aproximadamente 14 millones de casos nuevos en el mundo en el año 2012. Las estimaciones poblacionales indican que el número de casos nuevos probablemente aumente en un 70% en las próximas décadas, alcanzando los 24 millones de casos aproximadamente en el año 2035 [16] debido a que estos procesos tumorales son más frecuentes en personas de edad avanzada, siendo más notorio en países de ingresos medio-bajos en donde cerca del 70% de las muertes por cáncer se registran [17].

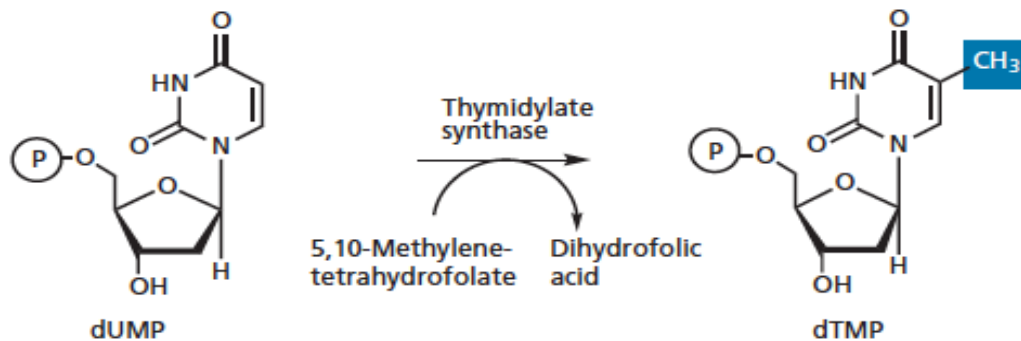
Los tumores más prevalentes en España son el cáncer de pulmón, seguido del cáncer de mama y el colorrectal.

Existen varios biomarcadores en la investigación del cáncer; uno de ellos es la timidilato sintasa cuyos valores intracelulares se utilizan como marcador pronóstico y predictivo en el manejo de pacientes con cáncer de colon[18].

La timidilato sintasa (TS) es una enzima que cataliza la conversión de uracilo en timina utilizando como coenzima un derivado del ácido fólico (**Figure CS5.1**), proceso limitante para la síntesis de ADN.

Esta reacción es esencial ya que el ADN está compuesto de una doble hélice que tiene dos combinaciones posibles de ácidos nucleicos para que se forme esta estructura. La citosina se une a la guanina y la adenosina a la timidina.

En el ADN no hay uracilo; por tanto la TS será necesaria para la obtención de timina siendo clave en el proceso de formación y reparación del ADN.



**FIGURE CS5.1** Reaction catalysed by thymidylate synthase. (P = Phosphate)

Debido a la sobreexpresión de la timidilato sintasa (TS) en tumores, se diseñaron dos fármacos que inhibían la actividad de esta enzima que son el 5-fluorouracilo (5-FU), la floxuridina.

Estos antimetabolitos son compuestos que mimetizan la estructura del sustrato natural de la enzima y del cofactor. Estas sustancias representan uno de los grupos de antitumorales más utilizados en todo el mundo. Además de la inhibición de la TS otro mecanismo que explica el efecto citotóxico de estos antitumorales es la incorporación errónea de nucleótidos en el ADN y desoxinucleótidos en el ARN.

## 5. OBJETIVOS

---

En este trabajo bibliográfico nos centraremos en buscar, guiándonos de distintas fuentes, la información necesaria para poder aclarar los siguientes puntos:

- Mecanismo de acción de la Timidilato sintasa.
- Mecanismo por el cual se pueda inhibir a esta enzima.
- Qué fármacos existen para realizar dicha acción inhibitoria.
- Cuáles son las consecuencias que se producen gracias a la acción de estos fármacos.
- Como optimizar la acción inhibitoria de los fármacos.

## 6. MATERIALES Y MÉTODOS

---

Para la realización de este trabajo bibliográfico se buscó información en distintos libros de química farmacéutica como “An Introduction to Medical Chemistry” y “Medicinal Chemistry of Anticancer Drugs”, revistas científicas y distintas bases de datos como PubMed que ayudasen a comprender y ver de forma más clara cómo actúa la timidilato sintasa y que repercusiones tiene su sobreexpresión, que fármacos antitumorales tienen como diana de acción esta enzima, el mecanismo de inhibición que se lleva a cabo y las consecuencias que conllevan esta acción.

## 7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

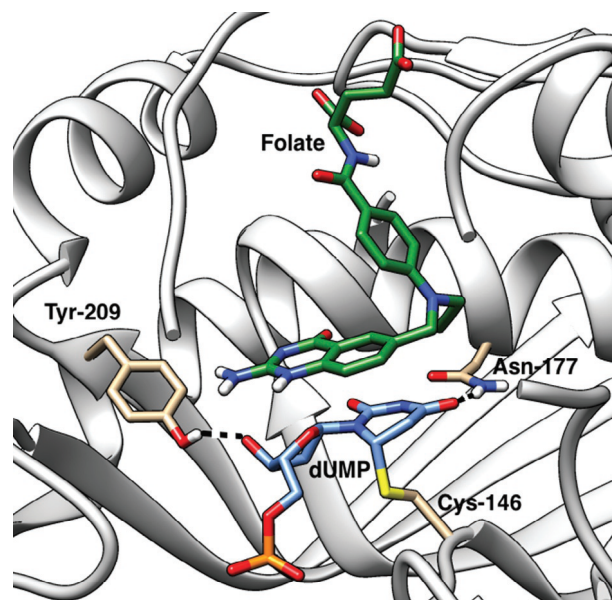
---

### 7.1. TIMIDILATO SINTASA

La timidilato sintasa (TS) es una enzima metiltransferasa dimérica que cataliza la conversión de uracilo en timina, etapa limitante en la síntesis del ADN.

En esta reacción la desoxiuridina monofosfato (dUMP), sustrato natural de la TS; se transforma en timidina monofosfato (TMP). Para ello utiliza como coenzima al ácido 5,10-metilentetrahidrofólico (5,10-CH<sub>2</sub>-THF) que tras finalizar la reacción se oxidará a dihidrofolato.

Primero un resto de cisteína del centro activo de la enzima se va a unir, mediante un enlace covalente, al sistema  $\alpha,\beta$ -insaturado de la dUMP a través de una adición de Michael y con esto se va a producir un cambio conformacional en la TS que va a abrir un centro de unión para el cofactor (5,10-CH<sub>2</sub>-THF) (**Figura 1**).



**Figura 1: Cambio conformacional TS tras unión de la dUMP**

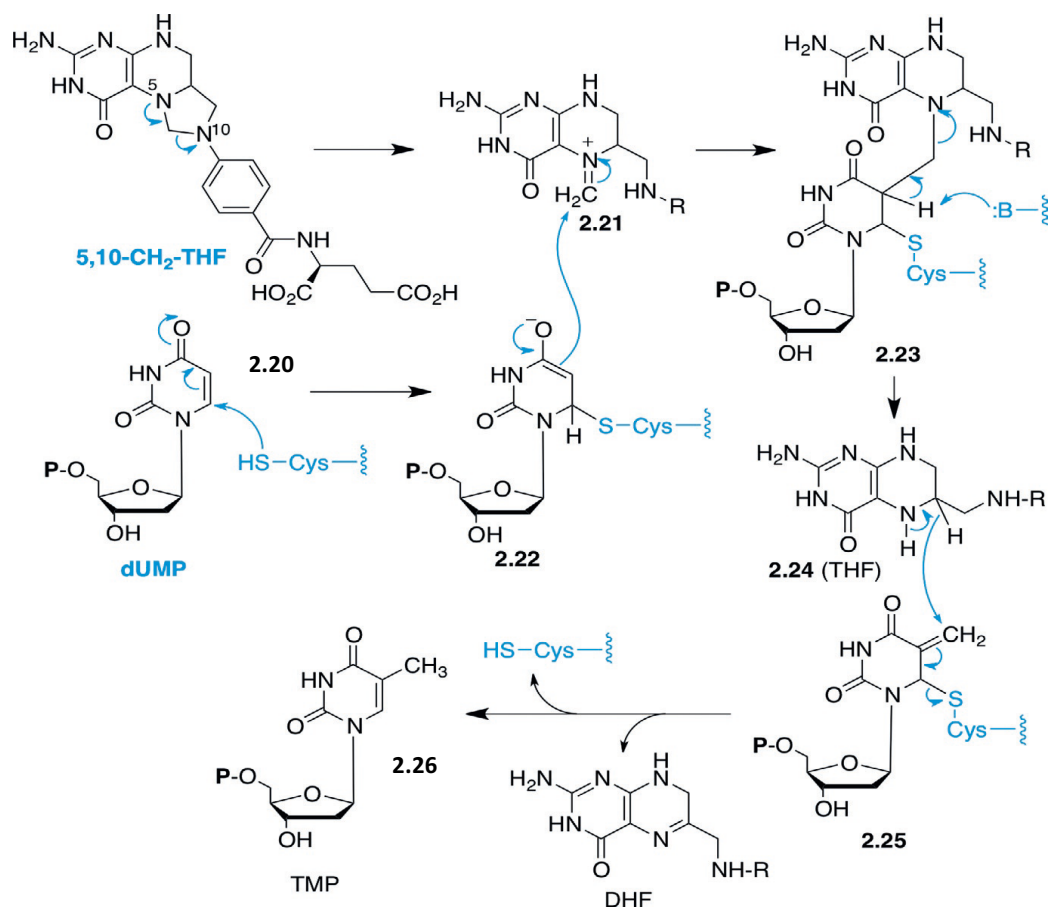
La reacción que se lleva a cabo es una metilación reductiva en la cual se transfiere un metilo (-CH<sub>3</sub>) de la coenzima hacia la posición 5 del anillo de pirimidina de la dUMP transformándose el uracilo en timina.

Además de donar el grupo metilo; la 5,10-CH<sub>2</sub>-THF actúa como agente reductor aportando un anión hidruro al anillo de pirimidina, que implica que el tetrahydrofolato se oxide a dihydrofolato.

La conversión de dUMP a TMP se lleva a cabo en varias etapas (**Figura 2**):

- Lo primero que sucede es una adición de Michael (**2.20**) en la que el grupo mercapto (-SH) de un residuo de cisteína de la TS actúa como nucleófilo atacando al sistema  $\alpha,\beta$ -insaturado de la base nitrogenada dando lugar a un enol.

- El enolato de la base nitrogenada actúa como nucleófilo (**2.22**) atacando al catión metileniminio (**2.21**) del cofactor.
- Se forma un complejo ternario (**2.23**) entre la enzima, la coenzima y la base nitrogenada que será clave en el proceso de inhibición.
- Tras la formación del complejo ternario, un resto básico de la TS captará el hidrógeno que está en posición alfa al carbonilo de la base nitrogenada y el tetrahidrofolato (THF) se separará (**2.24**). Esto da lugar a la formación de un aceptor de Michael con un doble enlace exocíclico (**2.25**) muy reactivo, que será atacado por un anión hidruro del carbono que se encuentra en posición alfa al nitrógeno de la posición 5 del cofactor generando el anillo de timina.
- Finalmente se libera la enzima y el cofactor obteniéndose TMP (**2.26**).



**Figura 2: Reacción de transformación del dUMP a TMP**

Para poder recuperar esos dos hidrógenos que ha perdido el tetrahidrofolato tiene lugar, a la vez de la reacción anterior, lo que se llama “el ciclo del timidilato” (**Figura 3**).

En este ciclo actúan dos enzimas; la primera enzima que participa en el ciclo es la dihidrofolato reductasa (DHFR) que se encarga de reducir el dihidrofolato que se ha formado durante la síntesis de timina en tetrahidrofolato.



La segunda enzima es la serin-hidroximetil transferasa (SHMT) que se encarga de ceder un grupo metilo de la serina, que se transforma en glicina; al tetrahidrofolato transformándose en el ácido 5,10-metilentetrahidrofólico y cerrando así este ciclo.

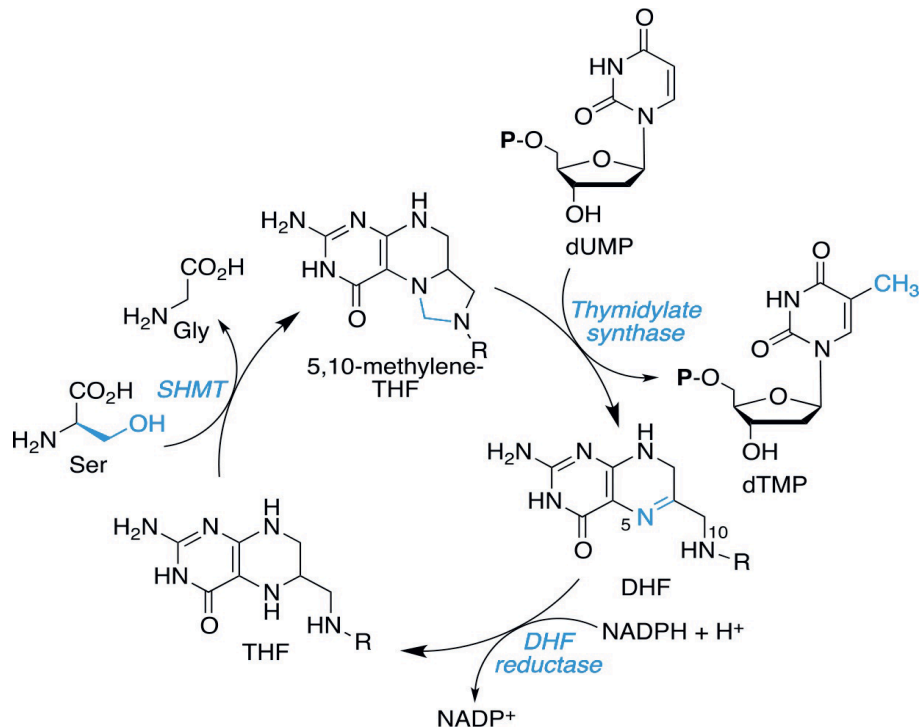


Figura 3: Ciclo del timidilato

## 7.2. INHIBIDORES DE LA TS QUE SE UNEN AL SITIO DE dUMP

### 7.2.1. 5-FLUOROURACILO Y FLOXURIDINA

En estudios realizados se observó que en hepatocarcinomas, el tejido tumoral utilizaba una mayor cantidad de uracilo que los tejidos normales. Esto sugirió que se empezara a investigar en como desarrollar antimetabolitos que se asemejaran al substrato natural que utiliza la TS y aparecieron dos fármacos; el 5-fluorouracilo y la floxuridina.

El 5-Fluorouracilo se desarrolló en 1957. Es un profármaco análogo al uracilo, que utiliza el transportador del uracilo para penetrar en las células y ya dentro de ellas ser activado y ejercer su acción. En particular el 5-FU se utiliza para tratar el cáncer del tracto aerodigestivo, cerebral y en especial el cáncer colorrectal en combinación con el oxaliplatino y el irinotecan [2], [3].

Lo que tienen de especial el 5-FU es el flúor del C-5 en vez de un hidrógeno que será esencial para ejercer la actividad inhibitoria. El flúor (1.47 Å) y el hidrógeno (1.20 Å) tienen radios de Van der Waals muy similares, y esto permite que la 5-FdUMP pueda unirse a la TS en el mismo sitio [4].

Además, la presencia del átomo de flúor hace que aumente la afinidad del fármaco por la TS con respecto al substrato natural aumentando la acidez del H en posición 3 e incrementando la electrofilia del carbono en posición 6 haciendo que sea más susceptible de ser atacado nucleofílicamente por el residuo de cisteína de la enzima.

La floxuridina es otro profármaco que actúa como falso sustrato inhibiendo a la TS. Al contrario que el 5-FU, éste profármaco ya tiene unido la ribosa, por tanto su bioactivación será más sencilla, ya que solo le hace falta fosforilarse para convertirse en el metabolito activo.

Este fármaco se emplea más en el tratamiento del tumor colorrectal metastásico y del adenocarcinoma digestivo metastásico de hígado. Su biodisponibilidad oral es muy baja, por tanto se suele administrar en pacientes por vía intraarterial o intravenosa.

### Bioactivación del 5-FU y la floxuridina:

El 5-FU es un antimetabolito con malas propiedades farmacocinéticas; es una sustancia muy poco soluble, a pH fisiológico está ionizado y no puede penetrar en la célula; además por vía oral forma redes cristalinas, por eso se administra como profármaco que se bioactiva a través del siguiente esquema de reacción (Figura 4):

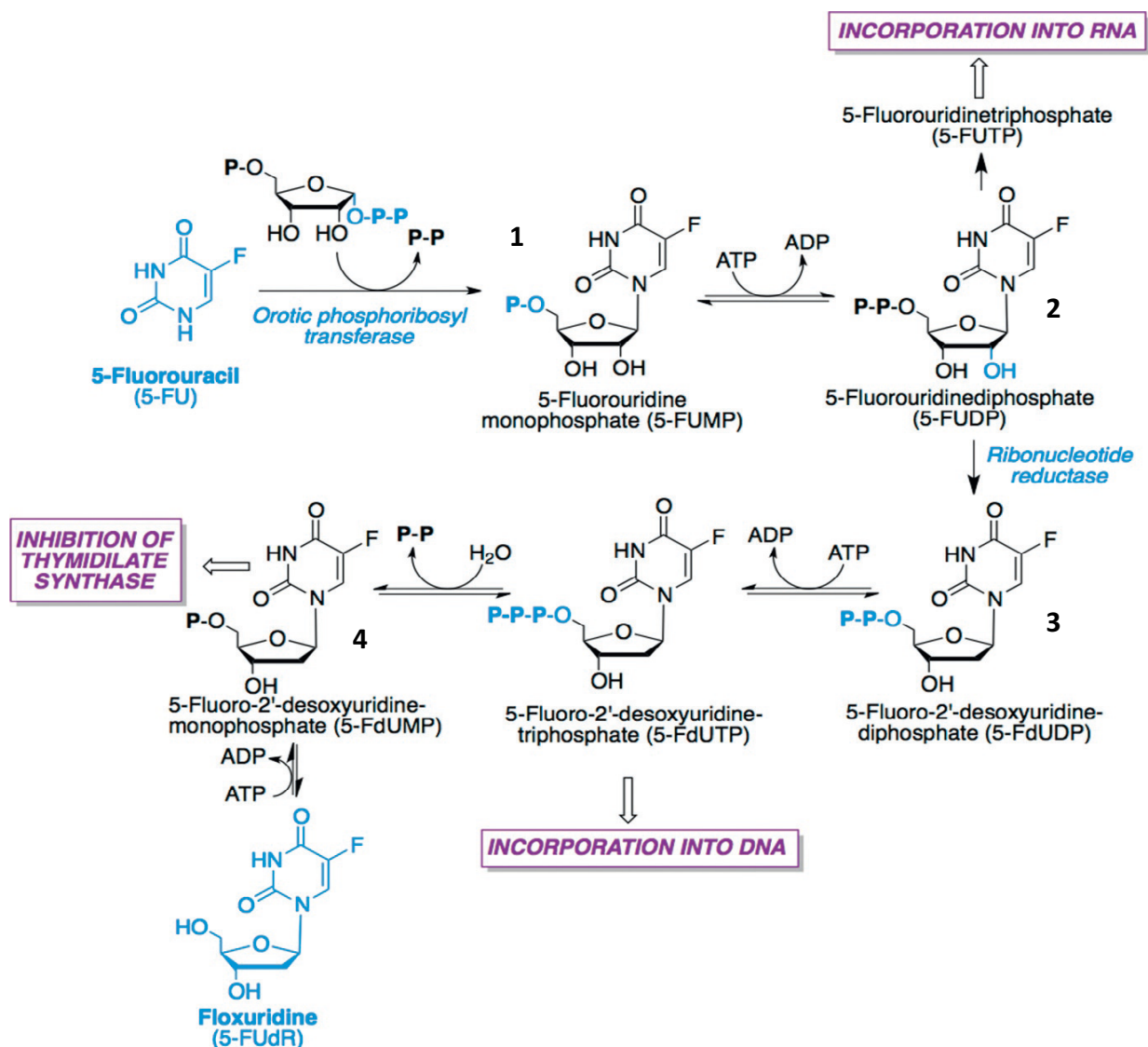


Figura 4: Bioactivación del 5-FU y floxuridina

- En primer lugar se produce una reacción de sustitución nucleofílica en la que se queda unida la ribosa monofosforilada al 5-FU dando lugar al **compuesto 1**.
- A continuación el **compuesto 1** se difosforila por mediación de una molécula de ATP originándose el **compuesto 2**.
- En la tercera reacción, por mediación de la ribonucleotido reductasa, la ribosa se transforma en 2-desoxirribosa y se obtiene el **compuesto 3**.
- Finalmente, se llega al **compuesto 4**, que es la forma activa del fármaco, por mediación del ATP y tras la pérdida de una molécula de pirofosfato.
- La floxuridina en cambio solo tiene que sufrir una fosforilación de la ribosa, por mediación del ATP transformándose en el compuesto activo.

### Mecanismo de inhibición (Figura 5):

Una vez estos dos fármacos se han transformado en 5-Fluoro-2'-desoxiuridina monofosfato (5-FdUMP), forma activa del fármaco; éste se va a unir al mismo lugar del homodímero de la TS al que lo hacía el sustrato natural.

Se produce una competición entre el sustrato natural y el fármaco activo en la que aquel que se encuentre en mayor concentración será el que más entre en la célula. Hay que decir que en los tumores hay un crecimiento masivo de células por tanto éstas necesitan constantemente aporte de nutrientes, es por ello por lo que se favorece aún más que el fármaco penetre en la célula.

Nos tenemos que detener en el momento en el que se forma el complejo ternario en la enzima (2.27) ya que cuando el residuo básico de la TS (A) llegue para arrancar el hidrógeno en posición 5 del fármaco, se va a encontrar con un flúor y esta base no lo va a poder arrancar ya que es un enlace covalente muy estable. Se forma entonces un complejo ternario irreversible de tal forma que la enzima TS quedará inactiva.

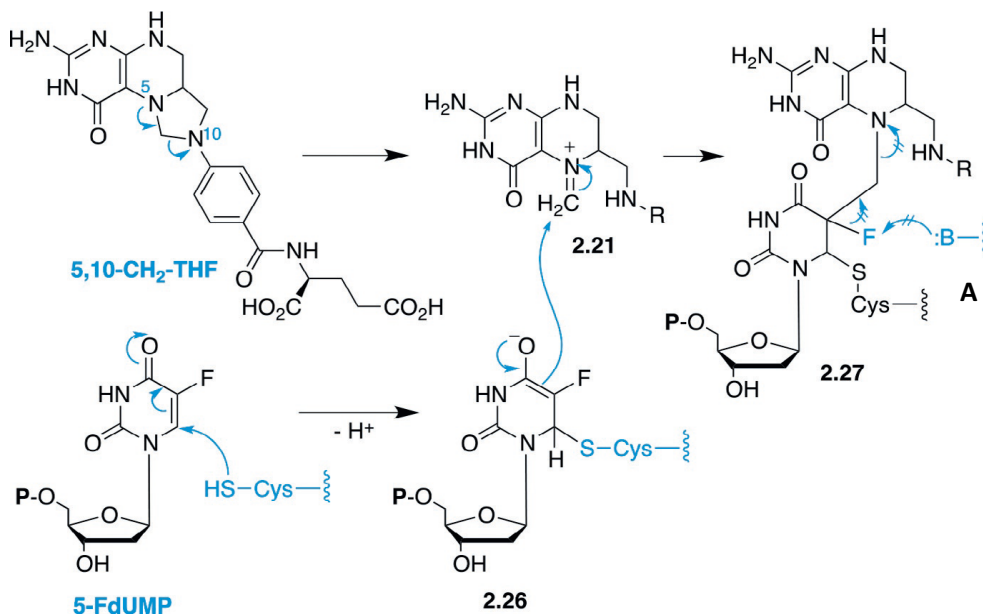


Figura 5: Mecanismo de inhibición de la 5-FdUMP

### **Consecuencias de la inhibición de la timidilato sintasa**

Como consecuencia de la inactivación de la TS se produce un agotamiento de TMP al no poder sintetizarse, que desemboca en lo que se denomina “muerte atimínica” de la célula, en la que, por desequilibrio en la relación dATP/TTP, se produce un desequilibrio en la síntesis y reparación del ADN.

Además el 5-FU tiene otro mecanismo de citotoxicidad en su forma trifosforilada, actúa como falso sustrato de la ADN polimerasa afectando al apareamiento de las bases y dando lugar a un ADN fraudulento. También actúa a nivel del ARN alterando la síntesis proteica.

Todo esto provoca un incremento de p53 por la activación del enlace p53-DNA [5]. P53 es un gen supresor que se encargará de parar la proliferación celular mientras se repara el daño, manteniendo así la integridad del ADN.

Este gen se encuentra en el cromosoma 17 y suele estar inhibido en el 60% de los tumores debido a mutaciones que sufre que se asocian con alteraciones en el ciclo celular, regulación de la transcripción y reparación del ADN y apoptosis celular posibilitando la progresión de los tumores.

### **Metabolismo del 5-FU**

El 5-FU, por vía intravenosa, es degradado en un 80% por la ruta catabólica en la que participa la enzima dihidropirimidina deshidrogenasa (DPD) que se encuentra en el hígado.

Esta enzima reduce el doble enlace de la pirimidina del 5-fluorouracilo dando lugar al dihidrofluorouracilo (DHFU), un metabolito inactivo que ya no puede ser atacado por el residuo de cisteína de la TS.

Para aumentar la vida media del 5-FU se administra conjuntamente con uracilo, de esta manera la DPD se satura y se impide su degradación. También podemos inhibir la DPD con compuestos como el 5-cloro-2,4-dihidroxipiridina (CDHP) o la brivudina que se administran conjuntamente con el 5-FU.

### **Resistencias y optimización de la actividad del 5-FU**

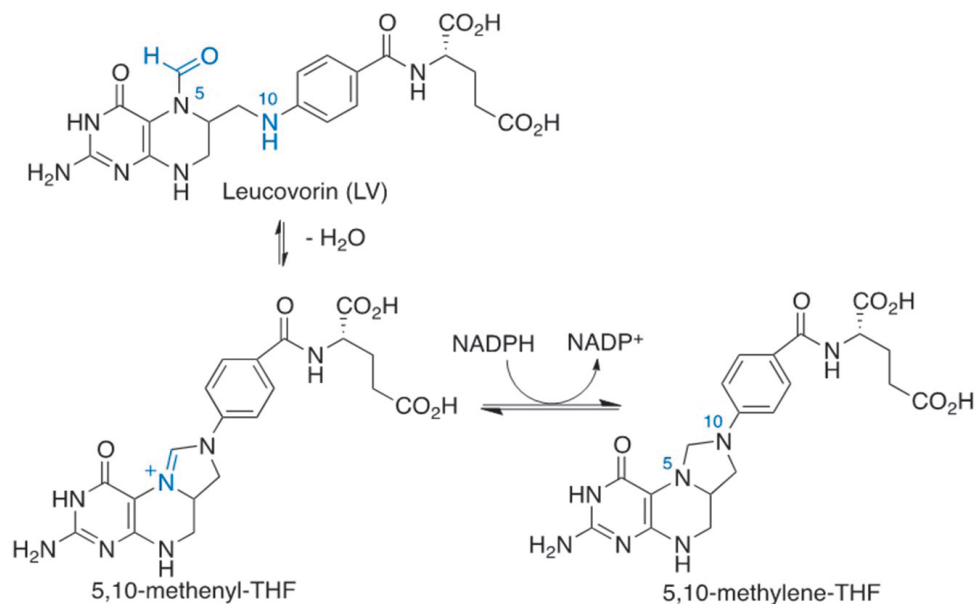
La eficacia del 5-FU puede disminuir por varios mecanismos:

1. Por incorporación de 5-fluoridina trifosfato en el ARN consecuencia de una alta concentración intracelular.
2. Aumento agudo de la TS: la formación del complejo ternario TS-5-FU-CH<sub>2</sub>-THF induce la expresión de TS debido a la inhibición de un mecanismo de retroalimentación negativa [4].
3. Debido a la inhibición de la TS se produce un aumento de los niveles intracelulares de la dUMP que competirán con la 5-fdUMP.

Una manera de optimizar la actividad de estos antineoplásicos es administrando previamente metotrexato, que es un agente antifolato; éste inhibe la síntesis de ácido fólico lo que provoca que se acumule fosforribosil pirofosfato (PRPP) que hace que aumente la bioactivación del 5-FU.

También se ha observado que administrando 5-FU o sus profármacos conjuntamente con leucovorina (LV) se estabiliza el complejo 5-FU-TS.

La leucovorina es un compuesto similar al ácido fólico. Este compuesto es capaz de ingresar en la célula a través del transportador de folato reducido y se metaboliza en 5,10-metilentetrahidrofolato sin ayuda de la DHFR (**Figura 6**).



**Figura 6: Mecanismo de acción leucovorina**

Cuando se administra esta combinación el 5-FU permanece más tiempo en el interior de la célula tumoral ya que la LV estimula la unión del 5-FU a la TS. Hay que decir que esto puede tener repercusiones negativas ya que el 5-FU permanece más tiempo en el cuerpo y por tanto sus efectos secundarios aumentarán.

## 7.2.2. PROFÁRMACOS DEL 5-FLUOROURACILO

La propia estructura del 5-Fluorouracilo favorece la formación de redes cristalinas. Esto hace que tenga muy baja solubilidad acuosa lo que hace imposible su administración por vía oral y por ello se debe administrar vía intravenosa.

Por ello, con el fin de mejorar sus características farmacocinéticas se diseñaron los siguientes profármacos:

El **tegafur** fue el primer profármaco que se sintetizó en el año 1967. Este metabolito se puede administrar por vía oral y se absorbe en el tracto digestivo donde se puede bioactivar de dos formas: al llegar al hígado por acción del citocromo CYP2A6 o por fosforilasas, dando lugar al 5-FU.

Sin embargo, debido a las graves toxicidades digestivas y cardíacas que producía, pronto fue reemplazado por biterapias que incluían al tegafur con otros inhibidores de enzimas, especialmente UFT (uracilo + tegafur) [5].

Se vio que la enzima Timidina fosforilasa (TP) está sobreexpresada en los tumores actuando como factor promotor de la angiogénesis tumoral. De hecho, hay datos experimentales que confirman una estrecha relación entre el incremento de la expresión de timidina fosforilasa con el aumento de la densidad microvascular tumoral [19].

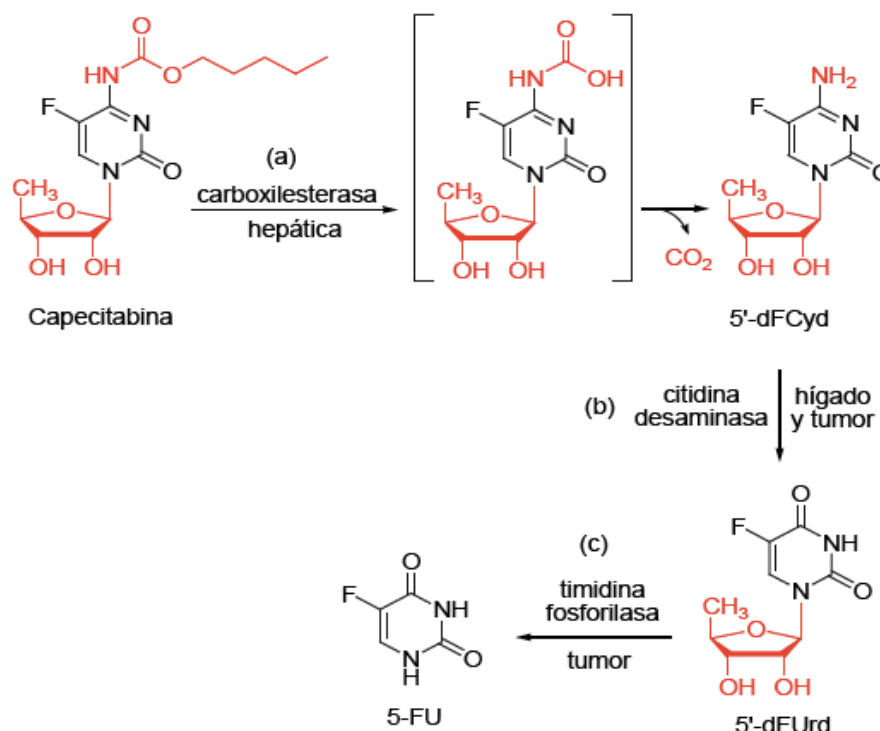
Aprovechando esta sobreexpresión de la TP se desarrolló la **doxifluridina**. Este profármaco se administra por vía oral y por la acción de la TP se convierte en 5-FU. Pero se vio que tras la administración oral se producía una importante toxicidad gastrointestinal.

Por ello, para evitar esos efectos adversos, se desarrolló otro nuevo fármaco, la **capecitabina (Xeloda®)**. Es el primer profármaco que posee en su estructura un grupo carbamato.

La administración de este fármaco se realiza por vía oral y se absorbe en el intestino a una alta velocidad de forma inactiva, evitando así que el 5-FU se libere directamente en el intestino. Con esto se consiguió disminuir los efectos adversos gastrointestinales que tenían las anteriores fluoropirimidinas.

La bioactivación de la capecitabina (**Figura 7**) consta de tres pasos:

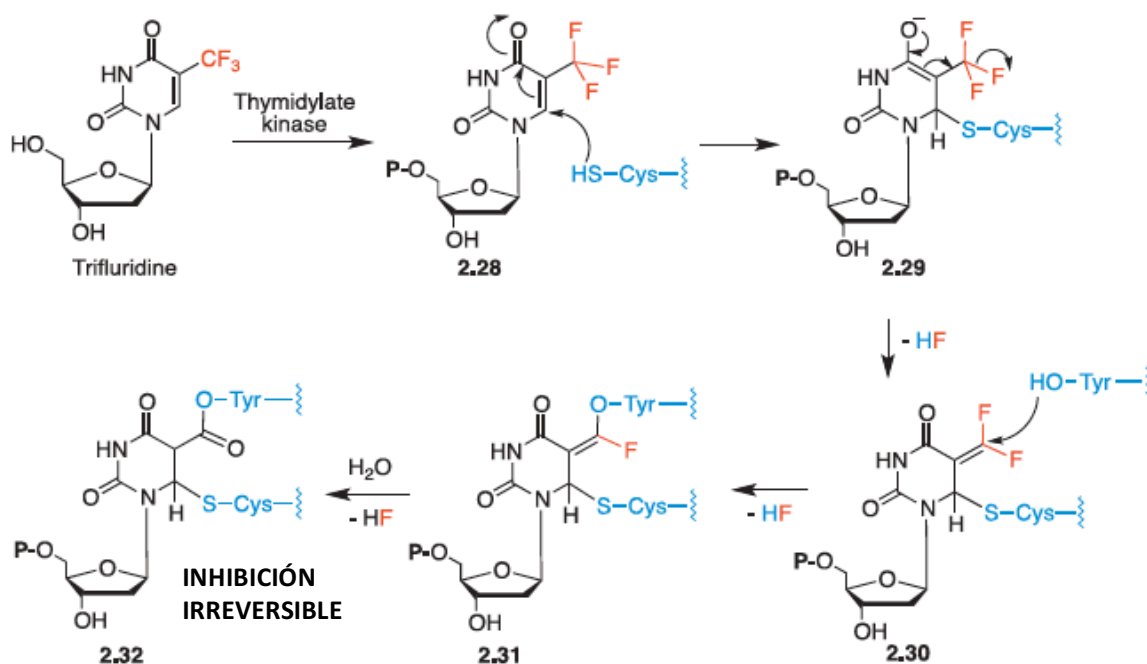
- El primer paso **(a)** ocurre en el hígado. Tiene lugar la hidrólisis del grupo éster del carbamato por acción de una carboxiesterasa hepática, dando lugar a un compuesto intermedio inestable que sufrirá una descarboxilación, liberándose  $\text{CO}_2$ , y dando lugar al 5'-deoxi-5-fluorocitidina (5'-dFCyd).
- En la segunda reacción **(b)** interviene la enzima citidina deaminasa. Es una reacción de desaminación que ocurre en el hígado y en células tumorales.
- La tercera y última reacción **(c)** ocurre mayoritariamente en células tumorales y conlleva la liberación del 5-FU por acción de la timidina fosforilasa, que una vez dentro de la célula tumoral se unirá a la TS y la inhibirá.



**Figura 7: Bioactivación de la capecitabina a 5-FU**

Estos dos últimos fármacos tienen la gran ventaja de que se bioactivan selectivamente en el hígado.

Otro profármaco que hay que destacar es la **trifluridina**. Este compuesto se bioactiva por fosforilación a la forma trifosforilada. Es un inhibidor reversible competitivo de la ADN polimerasa vírica, actuando como antiviral en queratitis herpéticas. Pero tiene un efecto secundario, es citotóxico; su forma monofosforilada actúa como inhibidor irreversible suicida de la TS como vemos a continuación (**Figura 8**):



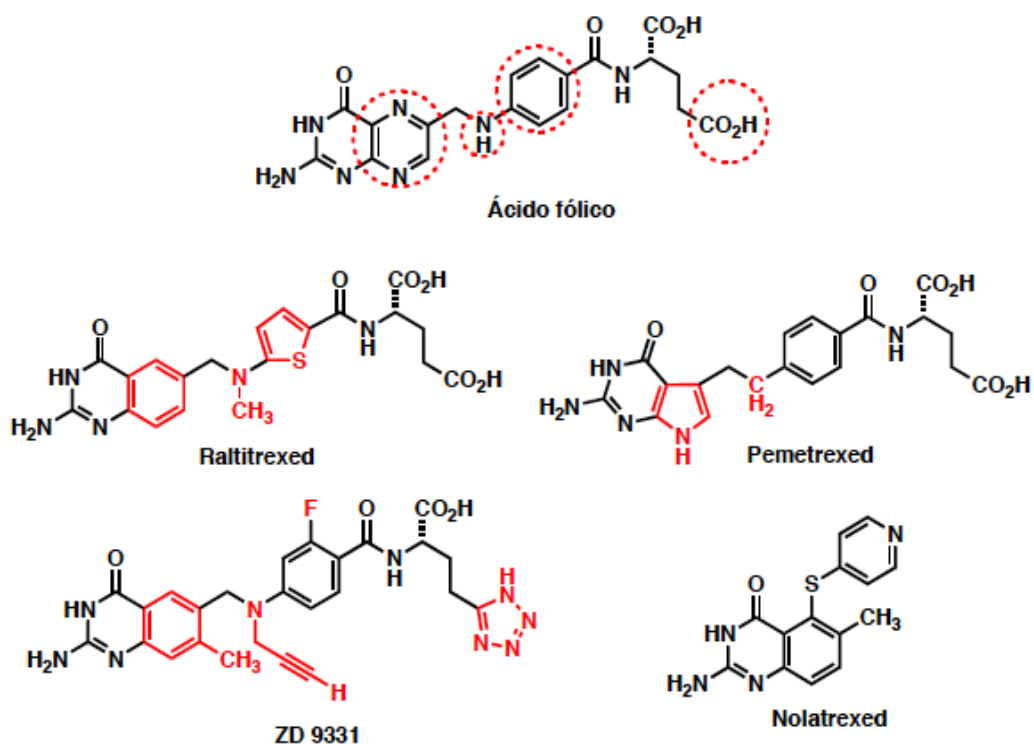
**Figura 8: Mecanismo de acción de la trifluridina**

Se vio que administrándolo por vía oral la trifluridina es rápidamente metabolizada por el efecto del primer paso hepático y degradada por la timidina fosforilasa. Y por esto se administra en biterapia con tipiracil hidrocloreto que es un inhibidor de la timidina fosforilasa. La combinación de trifluridina/tipiracil hidrocloreto, conocida como Lonsurf está indicado en el tratamiento de pacientes adultos con cáncer colorrectal metastásico que hayan sido previamente tratados o 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 [12].

### 7.3. INHIBIDORES DE TS ANÁLOGOS DEL ÁCIDO FÓLICO

El centro activo de la TS presenta, además de un sitio de unión para el sustrato; uno para la unión del cofactor (5,10-CH<sub>2</sub>-THF). Por ello, y ya que las fluoropirimidinas generaban demasiados efectos adversos, sobre todo gastrointestinales, tales como diarreas, náuseas, vómitos y estomatitis entre otros; se comenzó a desarrollar compuestos que eran análogos estructurales del ácido fólico que se unirán al sitio del cofactor inhibiendo a la TS.

Actualmente, hay cuatro inhibidores de la TS análogos al folato que se utilizan en el tratamiento frente al cáncer que son el raltitrexed, pemetrexed, plevitrexed y nolatrexed (**Figura 9**) que están disponibles como productos con licencia o en ensayos clínicos en varias etapas.



**Figura 9: inhibidores de la TS análogos al folato**

El **raltitrexed** es un agente antifolato hidrosoluble cuya actividad depende del transportador de folato reducido (RFC) y de la folipoliglutamato sintetasa (FPGS). Es un inhibidor clásico que posee un residuo de glutamato en la zona terminal.

Este compuesto penetra en las células humanas aprovechando el RFC y una vez en el interior se poliglutamata por la acción de la FPGS haciendo que aumente su acción y quedando retenido en el interior de la célula prolongándose su efecto.

Raltitrexed fue el primer inhibidor específico de TS análogo del ácido fólico que se aprobó para uso clínico, y se emplea para uso avanzado cáncer colorrectal [4].

El **pemetrexed** es otro agente antifolato inhibidor de la TS cuya actividad depende del RFC y FPGS.

Estudios in vitro han demostrado que pemetrexed actúa como inhibidor multidiana inhibiendo la TS, la dihidrofolato reductasa y la glicinamida ribonucleótido formiltransferasa (GARFT) [14].

Este compuesto sufre el mismo proceso que el anterior en el interior de la célula tumoral poliglutamándose y ejerciendo un efecto más prolongado en el tiempo.

Otro compuesto es el **plevitrexed (ZD 9331)**. La actividad de este antifolato solo depende del RFC.



Este compuesto se diferencia de los dos anteriores en que presenta, en posición 7, un grupo metilo que favorece aún más la unión a la TS; además presenta un flúor en 2' que también incrementa su actividad.

También cabe destacar como característica más significativa la sustitución del grupo carboxílico del ácido glutámico por el anillo de tetrazol, que es un isómero no clásico por acidez que aumenta su lipofilia y evita que se poliglutamate.

El problema que tienen estos fármacos es que el RFC se expresa tanto en tejido normal como en tumoral y esta es la razón principal de la toxicidad sistémica que presentan.

Por ello se diseñó este cuarto inhibidor análogo del ácido fólico, el **nolatrexed**; cuya actividad no depende ni del RFC ni de la FPGS.

Es un inhibidor lipófilo que no tiene cadenas laterales de glutamato pudiendo penetrar en la célula por difusión pasiva. Al no poder poliglutamarse no se queda retenido en el interior de la célula, por tanto tiene una vida plasmática más corta y esto requiere una infusión más prolongada.

Su espectro de toxicidades es más similar al 5-FU que al raltitrexed, y la mielosupresión y toxicidad de la mucosa son limitantes de la dosis [13].

En distintos estudios clínicos se han observado una limitada actividad frente al cáncer colorrectal y pancreático.

Actualmente nolatrexed está en ensayos de fase II que mostraron que tiene actividad frente al carcinoma hepatocelular y de cuello entre otros y la EMA lo ha aceptado como medicamento huérfano para el tratamiento del carcinoma hepatocelular.

## 8. CONCLUSIONES

---

Tras haber realizado una búsqueda bibliográfica a cerca de la enzima timidilato sintasa y la repercusión que tiene su sobreexpresión en el cáncer, y poder haber evaluado los distintos tratamientos con sus particulares mecanismos de acción se puede concluir que los inhibidores de esta enzima son una estrategia para el tratamiento antitumoral muy importante en la práctica clínica de hoy en día.

En particular el 5-fluorouracilo (análogo al sustrato de la enzima) que a pesar de haber pasado tanto tiempo desde su aparición sigue siendo uno de los fármacos más importantes en el tratamiento antitumoral que tiene como diana esta enzima.

Debido a su mala farmacocinética se han diseñado distintos profármacos como el tegafur, doxifluridina, etc.. que son activos por vía oral. Merece especial mención la capecitabina que es un profármaco de bioactivación selectiva en el hígado.

También se han desarrollado quimioterápicos muy utilizados en la terapia antitumoral dirigidos al sitio de unión del cofactor (análogos al ácido fólico) como son el raltitrexed, pemetrexed, plevitrexed, nolatrexed...

Actualmente se sigue investigando hoy en día para conseguir una terapia antitumoral más selectiva.

## 9. BIBLIOGRAFÍA

---

1. Estadísticas importantes sobre el cáncer colorrectal. Disponible en: <https://www.cancer.org/es/cancer/cancer-de-colon-o-recto/acerca/estadisticas-clave.html> (Actualizado en enero de 2019; citado en abril de 2019).
2. Adjei AA. *J. Clin Pharmacol* 1999;48:265.
3. Papamichael D. *Stem Cells* 2000;18:166.
4. Carmen Avendaño, J. Carlos Menéndez. *Medicinal Chemistry of Anticancer Drugs*, 2ª Edición. Elsevier, 2015.
5. Youcef M. Rustum. *Fluoropyrimidines in Cancer Therapy*. Springer Science + Business media New York, 2003.
6. López M, Anzola M, Cuevas-Salazar N, Aguirre JM, Martínez de Pancorbo M. p53, un gen supresor tumoral. Elsevier. *Gaceta Médica de Bilbao* 2001; 98(1),21-27.
7. Leucovorina. 2002-2019; citado en abril de 2029. Disponible en: <http://chemocare.com/es/chemotherapy/drug-info/leucovorina.aspx>
8. Graham L. Patrick. *An Introduction to Medical Chemistry*, 5th Edition. Editorial Oxford, 2013.
9. Diasio RB, Harris BE. *Clin Pharmacokinet* 1989;16:215.
10. J. Calzas Rodríguez, B. de la Nogal Fernández , J. J. Arrieta Garmendia, E. Lastra Aras, A. García Castaño, et al. Capecitabina: un quimioterápico oral en la lucha contra el cáncer de mama y colorrectal metastásico. *Farm hosp* 2003;27(3),171-178.
11. Silvia Cabrera, Alberto Díez-Torrubia. Profármacos: pasado, presente y futuro. *An. Quím.* 2010;106(3),207–214.
12. Ficha técnica o resumen de las características del lonsuf. Disponible en: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/lonsurf-epar-product-information\\_es.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/lonsurf-epar-product-information_es.pdf) (Accedido en abril de 2019).
13. D. Papamichael. The Use of Thymidylate Synthase Inhibitors in the Treatment of Advanced Colorectal Cancer: Current Status. *The Oncologist*. 1999;4(6):478-487.
14. Comisión de Farmacia y Terapéutica H. U. Virgen del Rocío. PEMETREXED en CPNM no escamoso. Disponible en: [https://gruposedetrabajo.sefh.es/genesis/genesis/Documents/PEMETREXED\\_CPNM\\_HU\\_VR\\_02\\_2011.doc](https://gruposedetrabajo.sefh.es/genesis/genesis/Documents/PEMETREXED_CPNM_HU_VR_02_2011.doc). (accedido en Abril del 2019).
15. Houghton JA, Tilman DM, Harwood FG. *Clin Cancer Res* 1995;1:723.

16. SEOM. Las cifras del cáncer en España 2018. Disponible en [https://seom.org/seomcms/images/stories/recursos/Las\\_Cifras\\_del\\_cancer\\_en\\_Espana2018.pdf](https://seom.org/seomcms/images/stories/recursos/Las_Cifras_del_cancer_en_Espana2018.pdf) (Actualizado en 2018; citado en abril de 2019).
17. Cáncer – World Health Organization. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cancer> (Actualizado en septiembre de 2018; citado en abril de 2019).
18. Hernández Mirna , Monzón Ana , Zabner-Oziel Priva, Morales Maria Rosángel, Guedez Nelson. Valor pronóstico y predictivo de la timidilato sintetasa (TS) en pacientes con cáncer de colon. Act Cient de la Soc Venez de Bioanal Espec. 2007;10(2),55-64.
19. BOT Plus. Angiogénesis y cáncer: mitos y realidades. Disponible en <https://botplusweb.portalfarma.com/documentos/panorama%20documentos%20multimedia/PAM233%20ANGIOGENESIS%20Y%20CANCER.PDF> (citado en abril de 21019).