

INHIBIDORES DE LA BIOSINTESIS DE POLIAMINAS

Lorena Rodríguez Paes*
Isabel Baeza Ramírez*
Carlos Wong Ramírez*
Ricardo Yáñez Avila**

INTRODUCCIÓN

Las aminas alifáticas, putrescina, espermidina y espermina, son constituyentes naturales de las células animales, vegetales y bacterianas. Son compuestos catiónicos estructuralmente sencillos (Figura 1).

Históricamente el primer informe acerca de la presencia de las poliaminas fue de Lewenhoeck, en 1677, quien describió unos cristales en el semen humano; posteriormente se describieron cristales parecidos obtenidos de otros líquidos biológicos y de tejidos. Fue hasta 1888 que se aplicó el término de espermina a estos cristales.¹ En 1926 se determinó la estructura química de la espermina, la cual fue confirmada por síntesis.¹ Poco tiempo después se aisló espermidina de páncreas de buey y la estructura química propuesta fue también confirmada por síntesis. La putrescina fue descrita junto con la cadaverina en materiales de descomposición animal y en cadáveres. La estructura de la putrescina fue establecida en 1886 por comparación con la diamina sintética.¹

Se han realizado muchos estudios que indican que estas aminas son fisiológicamente importantes. La demostración más temprana de que es-

tas aminas pueden tener un papel biológico esencial fue la observación de que varios microorganismos tienen un requerimiento absoluto de poliaminas para su crecimiento.¹ Por otro lado, se ha encontrado que la concentración de las poliaminas y sus enzimas biosintéticas son altas en tejidos animales en proliferación y se incrementan rápidamente cuando se induce al crecimiento o a la diferenciación de células en reposo.²

La mayoría de los efectos de las poliaminas en los sistemas biológicos puede explicarse en términos de su naturaleza polibásica (figura 1), de tal manera que tienen una alta afinidad hacia compuestos y estructuras celulares con grupos cargados negativamente. Sin embargo, intracelularmente, estos compuestos no actúan simplemente como policationes inespecíficos ya que se les han encontrado una gran variedad de efectos que no pueden ser atribuidos sólo a su carácter catiónico. La tabla 1 muestra la diversidad de los efectos descritos para las poliaminas en los seres vivos.

Los efectos de las poliaminas demuestran la gran diversidad de las reacciones y sistemas afectados por estos compuestos. Es importante tener en cuenta que estos efectos biológicos obtenidos la mayoría *in vitro* en sistemas aislados, no necesariamente representan sus funciones fisiológicas en la célula intacta, pero puede darnos idea de sus posibles funciones a nivel celular. Se ha demostrado que las células en rápido crecimiento tienen niveles más altos de poliaminas que las células que crecen más lentamente

* Departamento de Bioquímica de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas (ENCB)

** Departamento de Bioquímica y Biofísica de la Escuela Superior de Medicina (ESM) Instituto Politécnico Nacional.

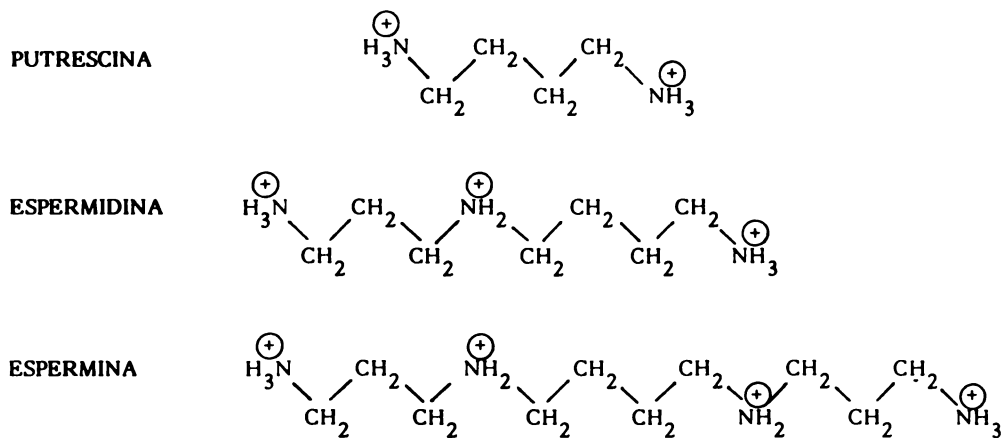


Fig. 1. Estructura de las poliaminas.

o que las células en reposo. Cuando las células en reposo se estimulan, los niveles de las poliaminas generalmente se incrementan antes del incremento en el contenido de DNA, RNA o proteínas.³ Este resultado sugiere, de acuerdo a la tabla I, que la función de las poliaminas puede ser la de estimular la síntesis de DNA, RNA o proteínas, o las tres a la vez, durante la proliferación celular, pero ha sido muy difícil evaluar cuál sistema bioquímico específico es el que se afecta por la presencia de las poliaminas.

El paso obvio para determinar el papel fisiológico de las poliaminas o más específicamente, cuál es el proceso en el que pueden estar involucradas, es analizar las consecuencias de la disminución del contenido celular de poliaminas. La eliminación de poliaminas se ha logrado en procariontes por el aislamiento de mutantes de *Escherichia coli* con defectos genéticos específicos en varios pasos de la síntesis de poliaminas. También se han obtenido mutantes de *Saccharomyces cerevisiae*, *Neurospora crassa* y *Aspergillus nidulans* con deficiencias en uno o varios pasos en la síntesis de poliaminas. El aislamiento de mutantes deficientes de poliaminas en células eucarióticas ha tenido más dificultades, sin embargo, por una técnica especial se ha podido obtener un cultivo, células de ovario de hamster chino con ausencia de poliaminas, habiéndose observado tanto en células procariontes como eucarióticas una notable disminución o ausencia del crecimiento celular.⁴

Otra alternativa para la elucidación de las funciones fisiológicas de las poliaminas es el desarrollo de inhibidores que interfieran específicamente en los diferentes pasos de la biosíntesis de las poliaminas, lo que ha abierto una línea de investigación sobre el diseño y síntesis de inhibidores de la biosíntesis de las poliaminas.

El presente ejercicio intenta recopilar información acerca de los inhibidores conocidos en la biosíntesis de las poliaminas.

BIOSÍNTESIS DE LAS POLIAMINAS

Todas las células procarióticas y eucarióticas pueden sintetizar putrescina y espermidina, sin embargo, la síntesis de espermina es exclusiva de células eucarióticas. En general los procariontes tienen concentraciones más altas de putrescina que de espermidina estando la espermina ausente. Por otro lado, los eucariotes generalmente tienen concentraciones pequeñas de putrescina y concentraciones más elevadas de espermidina y espermina.⁶

La vía principal para la síntesis de putrescina y espermidina fue establecida primero en microorganismos y posteriormente se encontró que era muy parecida en células animales. En la figura 2 se presenta la vía biosintética de la putrescina, de la espermidina y de la espermina.

En bacterias la putrescina puede formarse ya sea por la ornitina descarboxilasa (ODC) o por

TABLA I. EFECTOS BIOLÓGICOS DE LAS POLIAMINAS¹

- | | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>1) Poliaminas como factores de crecimiento</p> <p>a) En microorganismos</p> <p>b) En células de mamíferos</p> <p>2) Estabilización de membranas biológicas</p> <p>3) Asociación con ácidos nucleicos</p> <p>a) Estabilización de DNA contra la desnaturalización</p> <p>b) Asociación con tRNA</p> <p>c) Estabilización de la forma superenrollada del DNA</p> <p>d) Superenrollamiento del DNA en bacteriófagos</p> <p>e) Estimulación de la síntesis de DNA</p> <p>f) Estimulación de la síntesis de RNA</p> <p>g) Modificación de la actividad de ribonucleasas</p> <p>h) Estabilización del RNA sintetizado <i>de novo</i></p> <p>i) Asociación con la cromatina altamente condensada <i>in vivo</i>²</p> <p>4) Efectos de la síntesis de proteínas</p> <p>a) Unión de moléculas de tRNA a ribosomas</p> <p>b) Estimulación de la metilación del tRNA</p> <p>c) Reemplazamiento de Mg⁺⁺ en la reacción de la aminoacil tRNA sintetasa</p> | <p>d) Asociación con ribosomas</p> <p>e) Biogénesis de partículas ribosomales</p> <p>f) Fidelidad de la traducción</p> <p>g) Iniciación de la traducción</p> <p>h) Estimulación de la tRNA nucleotidil transferasa</p> <p>5) Efectos en varias reacciones metabólicas</p> <p>a) Estimulación de nucleótido cinasas</p> <p>b) Modificación de las actividades de proteinasas</p> <p>c) Aumento de ADP-ribosilaciones de proteínas nucleares</p> <p>d) Activación de fosforilasa b</p> <p>e) Estimulación de la liposis</p> <p>f) Activación de colina cinasa</p> <p>g) Aumento de la utilización de fructosa en espermatozoides epididimales</p> <p>h) Estimulación del metabolismo del estradiol en microsomas de hígado</p> <p>6) Efectos farmacológicos en animales íntegros</p> <p>a) Efectos nefrotóxicos</p> <p>b) Efectos hipotérmicos y sedativos</p> |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

¹ Tomado de la referencia 2.² Tomado de la referencia 5.

la arginina descarboxilasa (ADC), vía agmatina; ambas enzimas se encuentran normalmente en *E. coli*, aunque la descarboxilación de ornitina es usualmente la vía preferida. En células eucariótidas la única vía conocida para la síntesis de putrescina es a través de la ODC.⁶

Los principales precursores de las poliaminas son la ornitina y la S-adenosil-L-metionina (SAM). La ornitina necesaria para estas reacciones proviene de la acción de la arginasa. Es posible que la arginasa este presente en tejidos extrahepáticos para asegurar la disponibilidad de ornitina en la producción de poliaminas. La formación de SAM es catalizada por la metionina adenosil transferasa que emplea L-metionina y ATP como sustratos. Cabe mencionar que la SAM es donador de grupos metilo para varias enzimas transmetilantes conocidas.

a) *Ornitina descarboxilasa*

La ornitina descarboxilasa (ODC) es la enzima inicial de la vía biosintética, es una enzima dependiente de fosfato de piridoxal y cataliza la reacción de descarboxilación de ornitina para dar putrescina.

La detección de la actividad de la ODC en tejidos animales se publicó en 1968, al mismo tiempo se encontró que la enzima se incrementaba en el hígado después de una hepatectomía parcial y también durante el desarrollo embrionario del pollo.⁷

El interés en esta enzima fue posteriormente estimulado por la publicación de Russell y Snyder⁸ de que la ODC se recambia con una vida media muy corta, la más corta conocida hasta la fecha para enzima alguna (10-30 minutos), lo cual sugirió un papel regulador importante pa-

ra esta enzima. Aunado a ello, está el hecho de que es una enzima inducible; la actividad de la ODC de células de mamífero en reposo es muy pequeña, casi nula, pero incrementa su actividad en respuesta a una gran variedad de estímulos de crecimiento tales como: hormonas, análogos de AMPc y/o inhibidores de fosfodiesterasa, drogas, regeneración e hipertrofia de tejidos.⁹

El conocimiento de las características de la ODC se ha retrasado debido a que su concentración es muy pequeña y aun después de que

se ha inducido, representa sólo el 0.00014% de la proteína celular soluble.¹⁰

La ODC es una enzima esencialmente citoplasmática aunque se ha informado que también se encuentra en el núcleo, pero en mucho menor proporción; es una proteína homodimérica de aproximadamente 50,000 daltones de peso molecular por subunidad, requiere de grupos tiólicos para la conservación de su actividad y tiene un pI de 4.1 y un pH óptimo de 6.8 - 7.5. La K_m es de 0.2 mM para la ornitina y de 0.25 μ M para el fosfato de piridoxal.¹¹ La caracte-

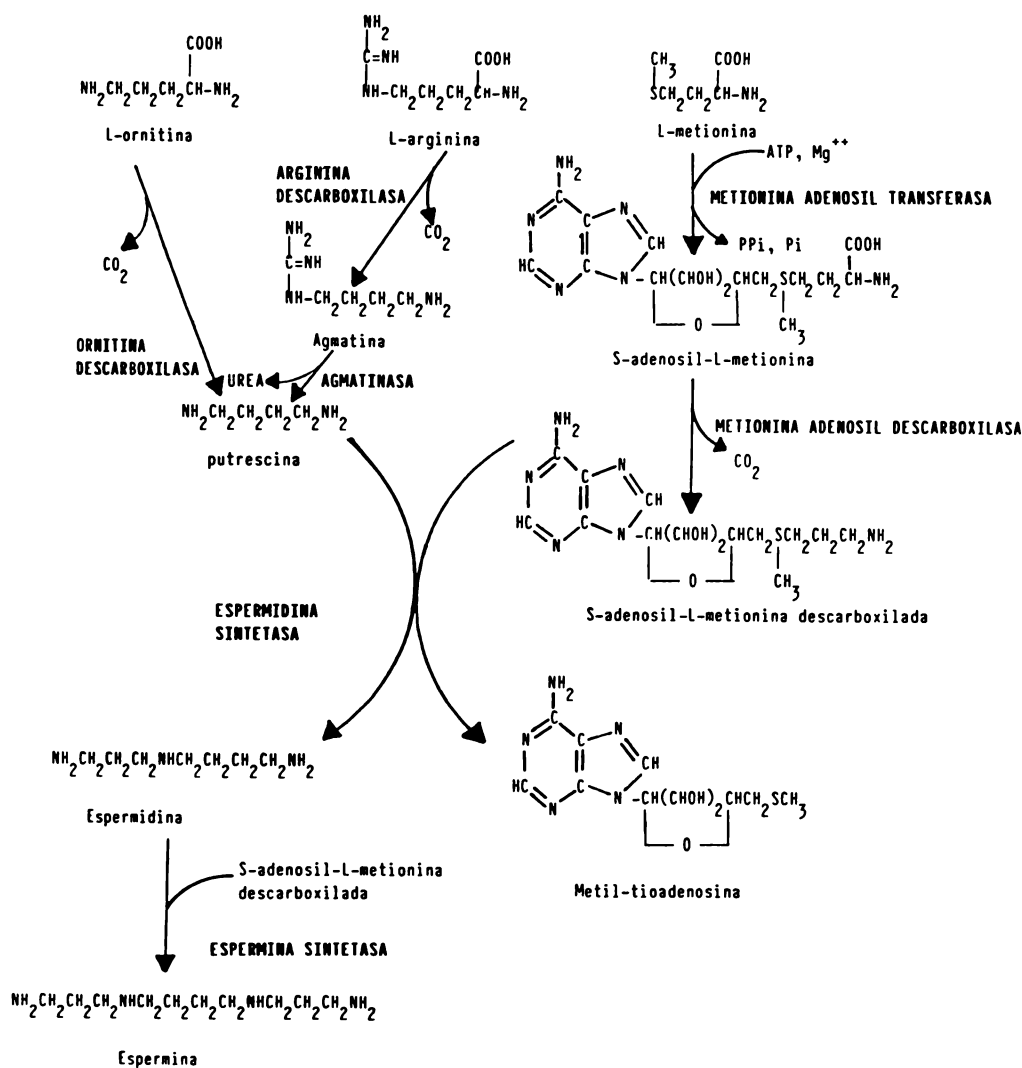


Fig. 2. Biosíntesis de putrescina, espermidina y espermina.

rística más impresionante de la actividad de la ODC en células de mamíferos y que ya se mencionó antes, es su recambio tan rápido. Este rápido recambio de la ODC es un reflejo de su regulación, ya sea a nivel de la síntesis a través de una respuesta rápida a una amplia variedad de estímulos, o a nivel de su degradación a través de la inducción de la síntesis de una proteína inhibidora¹² y de modificaciones postraduccionales.⁴

b) *S-adenosil-L-metionina descarboxilasa (SAMD)*

El segundo paso en la biosíntesis de las poliaminas es la descarboxilación de la *S-adenosil-L-metionina* para dar el producto *S-adenosil-L-metionina* descarboxilada que contiene una porción "aminopropil activa".

La *S-adenosil-L-metionina* descarboxilasa (SAMD) fue detectada primero en *E. coli* pero se ha encontrado ampliamente distribuida en bacterias, hongos, plantas y células animales.¹³ La SAMD se encontró en mamíferos hasta 1960, este retardo en su descubrimiento se atribuyó a que la actividad de la enzima es pequeña en tejidos animales y a los diferentes requerimientos para las enzimas procarióticas y eucarióticas (la SAMD de *E. coli* requiere Mg^{++} para su actividad y la SAMD de hígado de rata no lo requiere). Esta enzima es interesante desde el punto de vista mecánico, ya que la enzima no requiere fosfato de piridoxal para la reacción de descarboxilación sino que tiene unido covalentemente piruvato que es esencial para su actividad.¹³

La concentración de esta enzima en el hígado de rata es muy baja, 0.00025% del contenido proteínico del hígado normal. El peso molecular informado es de 68.000 daltones con dos subunidades de peso molecular de 32.500 cada una. La K_m para la SAM es de 0.05 mM. Esta enzima se estimula por la putrescina y contiene un mol de piruvato covalentemente unido por mol de subunidad. Al igual que la ODC, la SAMD es una enzima inducible, aunque la respuesta es más lenta y menos pronunciada que la respuesta de la ODC. La vida media de la SAMD varía entre 20 minutos y 2 horas y aunque es muy corta en relación a la mayoría de las enzimas de mamíferos, es más larga que la vida media de la

ODC.¹³ La regulación de la SAMD se debe en parte a los niveles de espermidina: los niveles de la SAMD se disminuyen si la espermidina se adiciona al medio de cultivo y se incrementan si los niveles de espermidina se disminuyen.¹³

c) *Espermidina y espermina sintetetas*

Estas dos diferentes enzimas transfieren un grupo aminopropilo de la SAM descarboxilada a la putrescina y a la espermidina, resultando en la formación de espermidina y espermina respectivamente.

Las dos sintetetas han sido purificadas y caracterizadas de cerebro de bovino. La espermidina sintetasa consta de dos subunidades de peso molecular de 36.000 daltones cada una, con un pI de 5.22. Las K_m para putrescina y SAM descarboxilada son 0.04 mM y 0.0003 mM respectivamente. La cadaverina (1,5-diamino pentano) y el 1,6-diamino hexano pueden reemplazar a la putrescina como aceptores de aminopropilo, aunque las velocidades de reacción son 6 y 1% respectivamente de la velocidad obtenida con la putrescina. Tanto la espermidina como la 5'-metil-tioadenosina, los productos de la reacción, son inhibidores de la enzima.¹⁴

La espermina sintetasa de cerebro de bovino es una enzima específica de células eucarióticas. Consta de dos subunidades de peso molecular de 44.000 daltones.¹⁵ La K_m para la SAM descarboxilada es de 0.0001 mM y para la espermidina es de 0.06 mM. La espermina es un producto inhibitorio competitivo con respecto a la SAM descarboxilada y de tipo mezclado con respecto a la espermidina. La 5'-metil-tioadenosina, producto de la reacción provoca una inhibición de tipo mezclado con ambos sustratos.¹⁶

Es probable que las dos sintetetas sean reguladas por la disponibilidad de sus sustratos y la competencia por ellos.

INHIBIDORES DE LA BIOSÍNTESIS DE LAS POLIAMINAS

La síntesis de inhibidores de la biosíntesis de las poliaminas surgió en los inicios de los 70's por la necesidad de entender el papel de las poliaminas en tejidos de crecimiento rápido (hígado de rata en regeneración, desarrollo embrio-

nario de pollo) que desde los 50's ya se venía mencionando. Una forma de atacar el problema fue abatir las concentraciones de poliaminas y observar los efectos producidos por ello.

a) *Inhibidores de la ornitina descarboxilasa*

La síntesis de inhibidores de la biosíntesis de las poliaminas estuvo en sus inicios dirigida a modificar la molécula de ornitina para tratar de inhibir a la ornitina descarboxilasa (ODC) ya que es la enzima limitante de la biosíntesis de las poliaminas.

Uno de los primeros inhibidores de la ODC fue la alfa-hidracino ornitina (tabla II) la cual fue aprobada por Harik y Snyder sobre la ODC de próstata de rata y de *E. coli*.¹⁷ Este compuesto inhibe a la ODC de manera reversible y competitiva con una constante de inhibición (Ki) de 2×10^{-6} y 5×10^{-7} M respectivamente.

Posteriormente a este inhibidor se publicó la síntesis de la alfa-metil⁺ornitina (tabla II) que resultó ser un inhibidor competitivo de la ODC de próstata de rata con un Ki de 4×10^{-5} M (17). Se demostró que este inhibidor bloqueaba la proliferación de células de hepatoma de rata en cultivo, resultado que abrió un campo dirigido al uso de este tipo de sustancias como fármacos.¹⁸

En 1975, Abdel Monen *et al.*¹⁷ sintetizaron varios alfa-alquil y alfa-bencil derivados de la ornitina (tabla II) tomando como premisa que si la sustitución del hidrógeno alfa de la molécula de ornitina con un grupo metilo proporcionaba un inhibidor competitivo potente, el reemplazamiento del hidrógeno alfa con otros grupos alquilo o bencilo podrían también ser inhibidores potentes de esta enzima. La inhibición se midió con ODC de próstata de rata siendo inhibidores competitivos aunque menos efectivos que la alfa-metil ornitina. El incremento en la longitud de la cadena de alfa-etil a alfa-butil provocó una ligera disminución de la actividad; de alfa-hexil a alfa-octil se produjo un pequeño incremento de la actividad inhibidora y el derivado alfa-octil fue el compuesto más activo en esta serie. El derivado alfa-bencil tuvo una potencia semejante a la de la alfa-etil ornitina. En ese mismo año estos autores publicaron la síntesis y evaluación como inhibidor del ácido alfa-hidracino-alfa-metil ornitina (ácido 5-amino-2-hidracino-2-

metil-pentanoico) combinando así las funciones alfa-hidracino y alfa-metil en uno solo (tabla II) El análisis cinético de este compuesto sobre la ODC de próstata de rata mostró un inhibidor de tipo competitivo con una Ki de 3×10^{-6} M teniendo una mayor potencia, de aproximadamente 10 veces con respecto a la alfa-metil⁺ornitina y aproximadamente igual a la alfa-hidracino ornitina.¹⁷

También en 1975, Relyea *et al.*¹⁷ sintetizaron y ensayaron el análogo insaturado de la ornitina como inhibidor de la ODC, basándose en que previamente se había encontrado que los derivados insaturados de los aminoácidos podrían ser inhibidores de algunas enzimas que utilizan el fosfato de piridoxal como cofactor. Sintetizaron el compuesto trans-3-deshidro-D,L-ornitina (tabla II) que resultó ser inhibidor competitivo de la ODC de hígado de rata.

Tres años más tarde, en 1978, Bey *et al.*¹⁹ publicaron la síntesis de análogos estructurales de la ornitina diseñados en base a restricciones conformacionales que resultan de la formación de anillos aromáticos, diferentes patrones de sustitución de la función amina y/o carbono alfa o beta, modificaciones del grupo carboxilo y diferentes configuraciones del carbono alfa (tabla II). De todos ellos la alfa-metil-L-ornitina fue el inhibidor más potente de la ODC de hígado de rata. Se pudieron obtener los siguientes datos con respecto al sitio activo de la enzima: a) sólo la configuración L del sustrato es efectiva (el derivado D es mucho menos efectivo que el derivado L); b) la distancia entre los dos átomos de nitrógeno que es de aproximadamente 6 Å es crucial para la unión (de los dos derivados cíclicos, sólo el derivado trans es efectivo, el derivado cis no tiene actividad inhibidora); c) el área de la enzima que acomoda el grupo amino terminal del sustrato es muy sensible a impedimento estérico, mientras que el área que acomoda al grupo carboxilo no lo es (los derivados delta-N-sustituidos son menos efectivos que el derivado tetrazolio de la ornitina); d) son importantes las interacciones hidrofóbicas entre la enzima y la cadena hidrocarbonada del sustrato para la unión ya que las funciones hidrofílicas unidas al carbono alfa o beta disminuyen la afinidad por la enzima.

A partir de 1977 se sintetizaron y probaron

compuestos análogos de la putrescina, ya que otra posible vía para lograr inhibición de la biosíntesis de las poliaminas es a través de la síntesis de análogos del producto de la reacción de la ODC.

Los análogos de la putrescina que se han encontrado que inhiben a la ODC son un análogo insaturado y derivados oxigenados. El trans-1,4-diamino-2-butenol es un inhibidor competitivo muy potente de la ODC (tabla III); el 1,4-diamino-2-butanol no es inhibidor.¹²

En un estudio hecho por Stevens *et al.*¹⁷ se probaron 11 derivados de la putrescina y sólo la 1,4-diamino butanona y la 2-hidroxi-putrescina inhibieron a la ODC de *A. nidulans* (tabla III).

También se han sintetizado compuestos que interaccionan o son análogos del cofactor, el fosfato de piridoxal. Quizá el primer compuesto que se encontró que inhibe a la ODC fue la canalina (tabla IV), análogo estructural de la ornitina que se pensaba que inhibiría a la ODC por su semejanza con el sustrato, pero se encontró que la inhibía por su interacción con el fosfato de piridoxal.²⁰

Heller *et al.*¹⁷, en 1975, sintetizaron N-(5'-fosfopiridoxil)-ornitina, N-(5'-piridoxil)-ornitina y N-(5'-fosfopiridoxil)-lisina como posibles inhibidores de la ODC.

El único que funcionó como inhibidor fue el primero; es un inhibidor no competitivo con respecto a la ornitina y al fosfato de piridoxal (tabla IV).

A partir de 1978 se publicó la síntesis de inhibidores enzimáticos de la biosíntesis de las poliaminas basados en el concepto de inhibición irreversible inducida por la enzima. El principio de este tipo de inhibición se basa en sintetizar un compuesto que además de tener semejanza con el sustrato natural debe funcionar como sustrato, y el producto de la reacción se debe comportar como inhibidor irreversible de la enzima. Lo importante de este mecanismo es que introduce dos parámetros de especificidad: el compuesto no sólo debe entrar al sitio activo de la enzima, sino que debe realizarse por lo menos parte del mecanismo catalítico normal antes de que se transforme en un inhibidor irreversible. Tales inhibidores activados por enzimas también se han llamado inactivadores o inhibidores suicidas e inhibidores kcat.²¹

En las tablas V y VI se muestran los análogos de la ornitina y la putrescina sintetizados por este principio, son compuestos alfa-metil fluorados y/o insaturados.²²

Como puede observarse, todos los análogos de la ornitina a excepción de la alfa-vinil ornitina son inhibidores muy efectivos de la ODC. La introducción de dobles enlaces incrementa la potencia inhibidora de la monofluoro-metil-ornitina y de la difluoro-metil-ornitina. No sólo la afinidad de la enzima se incrementa [constante de disociación aparente más pequeña (K_i)] sino también la rapidez de la inactivación ($t_{1/2}$ a la saturación).

Los derivados de la putrescina (tabla IV) se comportaron de manera semejante. Fueron inhibidores potentes de la ODC a excepción de la alfa-vinil putrescina.

Los análogos de la putrescina, aunque son muy potentes inhibidores *in vitro* tienen una desventaja y es que se convierten *in vivo* a análogos del ácido gamma-amino butírico (GABA) por lo que llegan a inhibir a la GABA transaminasa provocando un incremento en los niveles de GABA con los consecuentes efectos farmacológicos derivados de ello. Para evitar la oxidación del grupo amino terminal por la monoamino oxidasa, se sintetizó el derivado monometilado de la putrescina, la delta-N-metil-acetilen-putrescina (MAP), que es un inhibidor muy potente de la ODC (tabla VI). MAP es una mezcla de cuatro diastereoisómeros (RR, SS, RS, SR) pero la actividad inhibidora reside casi completamente en el isómero RR. Esto representa un caso en el cual la potencia del inhibidor se determina no sólo por la configuración del carbono que orienta las especies reactivas latentes, sino también por la presencia de un centro asimétrico lejano que no se encuentra ni en el sustrato ni en el producto de la catálisis enzimática.

b) *Inhibidores de la S-adenosil-L-metionina descarboxilasa*

La síntesis de sustancias análogas de la S-adenosil-L-metionina (SAM) y de la metionina estuvo limitada en sus inicios porque la SAM participa en muchos procesos metabólicos además de la biosíntesis de la espermidina y la espermina. Por ello la búsqueda de inhibidores de la

S-adenosil-L-metionina descarboxilasa (SAMD) se dirigió hacia la síntesis de aminas derivadas de la putrescina y la espermidina, ya que se sabía que estas poliaminas activaban a la SAMD, probablemente porque se unían en un sitio especial en la enzima. En el curso de estos estudios, William Ashman y Schenone²³ encontraron que el metil-glioxal bis-(guanilhidrazona) (MGBG) era un inhibidor muy potente de la SAMD activada por putrescina de próstata de rata (tabla VII). Algo interesante del MGBG es que primero se utilizó como agente antileucémico y posteriormente fue que se encontró que su efecto antileucémico era debido, por lo menos en parte, a inhibición de la síntesis de espermidina.

Corti *et al.*²⁴ publicaron un estudio de inhibición de la SAMD por congéneres del MGBG (tabla VII). La tabla muestra que las bis-(guanilhidrazonas) del etilglioxal y dimetil-glioxal inhiben a la SAMD de próstata de rata, aproximadamente en el mismo grado que el MGBG. También se muestra que el incremento de la cadena reduce la actividad inhibitoria del MGBG. Además la introducción de grupos metilo en los grupos amino primarios en ambos extremos del MGBG disminuye grandemente su poder inhibitor, mientras que la adición de grupos metilo en los dos nitrógenos secundarios internos afecta en menor grado la pérdida de actividad inhibitoria.

En 1976, Pegg *et al.*¹⁷ publicaron la inhibición de la SAMD por el 1,1-(metiletandilidendinitrilo)-bis-(3-aminoguanidina) (MBAG) que tiene un grupo amino adicional en ambas porciones del grupo guanidino del MGBG. Este compuesto logró inhibir en forma irreversible a la SAMD de hígado de rata (tabla VII). También fue un inhibidor reversible competitivo cuando se ensayó a corto tiempo, resultado que está de acuerdo con una unión inicial del inhibidor a la enzima de manera reversible y después una inactivación por unírsele a un grupo carbonilo esencial para la actividad de la enzima.

En 1980 Pankaskie y Abdel Monen²⁵ publicaron tres sustancias análogas al sustrato SAM (tabla VIII), que fueron inhibidores competitivos de la enzima.

Posteriormente, Kolb *et al.*²⁶ obtuvieron otros derivados de la SAM al remplazar el átomo de azufre por el de nitrógeno. La sustitución pro-

duce compuestos químicamente estables que bajo condiciones fisiológicas poseerán un centro catiónico en la posición 5' al igual que se presenta con el átomo de azufre. Las sustancias de este tipo aparecen en la tabla VIII. Todas ellas fueron inhibidores competitivos de la SAMD y se obtuvieron algunas conclusiones con respecto a la unión enzima-sustrato: *a*) el grupo carboxilo no es esencial para la afinidad entre la enzima y el sustrato; *b*) el grupo amino terminal primario no es un prerrequisito para la afinidad en el sitio activo, sin embargo, sí tiene importancia relativa en la afinidad, demostrado por las diferencias de los valores de K_i ; *c*) la funcionalidad del grupo sulfonio no es determinante para la unión a la enzima, lo que sugiere que es la carga en la posición 5' la que es de importancia para la unión del sustrato a la enzima.

c) Inhibidores de espermidina y espermina sintetasas

Además de los inhibidores de la ODC y de la SAMD surgió la necesidad de diseñar y sintetizar inhibidores de la espermidina y espermina sintetasas ya que el tener sustancias que inhiban en todos los puntos de la vía biosintética facilitará el entendimiento del papel de éstas a nivel celular; además, hablando farmacológicamente, es mejor tener más opciones de bloqueos en diferentes puntos de la vía metabólica que en uno solo de ellos.

Hibasami *et al.*²⁷ probaron SAM, S-adenosil-homocisteína, 5'-metil-tioadenosina y varios análogos de éstos con modificaciones en la base nitrogenada, en el azúcar o en la porción aminoácido de la molécula, como inhibidores potenciales de la espermidina y espermina sintetasas. La SAM inhibió a ambas sintetasas, logró aproximadamente un 90% de inhibición a una concentración de 1 mM. Análogos de la SAM como la S-adenosil-etionina y el ácido S-adenosil-4-metil-tiobutírico, también fueron inhibidores de las dos enzimas (tabla IX). La 5'-metil-tioadenosina y su análogo, el 5'-etil-tioadenosina fueron inhibidores de ambas sintetasas (tabla IX). La S-adenosil-homocisteína no inhibió a ninguna de las sintetasas, pero su análogo, la sulfona de S-adenosil-homocisteína sí fue capaz de inhibir a las dos sintetasas aunque con mayor eficiencia

a la espermidina sintetasa (tabla IX).

Tang *et al.*²⁸ sintetizaron S-adenosil-1,8-diamino-3-tiooctano y su correspondiente sal de metil sulfonio. El primero fue un potente inhibidor de la espermidina sintetasa sin efecto considerable sobre la espermina sintetasa; el segundo es menos efectivo e inhibe a las dos enzimas aunque en diferente proporción.

Otro inhibidor específico de la espermidina sintetasa es la ciclohexilamina que es un inhibidor competitivo de la enzima de próstata de rata.¹⁵

La 5'-metil-tioadenosina es el único inhibidor específico a la fecha conocido para la espermina sintetasa.¹⁵

EFFECTOS CELULARES DE LA INHIBICIÓN DE LA BIOSÍNTESIS DE POLIAMINAS

Con el descubrimiento y síntesis de inhibidores de la biosíntesis de las poliaminas se pudieron diseñar experimentos concluyentes acerca del papel de las poliaminas en el proceso de división y crecimiento celular.

Varios grupos utilizando al MGBG, el inhibidor competitivo de la SAMD, para bloquear la síntesis de espermidina en linfocitos activados fueron capaces de observar una dramática disminución en la síntesis de DNA que estuvo relacionada al bloqueo de la síntesis de espermidina.²⁹ Basados en estos datos y en el hecho de que el bloqueo en la síntesis del DNA es revertido por la adición de espermidina, Morris *et al.*²⁹ postularon que los niveles incrementados de espermidina y espermina en sistemas eucarióticos en rápida proliferación son necesarios para una rápida replicación.

Uno de los resultados más importantes que verdaderamente unió a las poliaminas con la síntesis de DNA y la división celular, involucró el uso del inhibidor competitivo de la ODC, la alfa-metil⁺ornitina, en células de hepatoma de rata en cultivo. En este trabajo, Mamont *et al.*¹⁸ demostraron que la inhibición de la ODC en células de hepatoma de rata en cultivo inducidas a proliferar causa una rápida caída en los niveles de putrescina y espermidina, junto con esto, la síntesis de DNA y la proliferación celular se inhibieron. La adición de poliaminas provocó el inmediato resurgimiento de la proliferación celular. Experimentos posteriores utilizando a la

difluorometil-ornitina, un inhibidor irreversible de la ODC, confirmaron lo anterior. La exposición a la difluorometil-ornitina (DFMO) restringió el crecimiento en células de hepatoma de rata en cultivo, células de leucemia de ratón L-1210 y células de adenoma de próstata humano MA-160, con efectos reversibles por la adición de poliaminas exógenas.²⁹

IMPLICACIONES QUIMIOTERAPÉUTICAS DE LA INHIBICIÓN DE LA BIOSÍNTESIS DE LAS POLIAMINAS

Debido a que la difluoro-metil-ornitina (DFMO) inhibe la proliferación celular de manera impresionante, ha habido considerable interés en el uso quimioterapéutico potencial de este compuesto. En particular, hay un gran número de estudios en animales que muestran su efectividad en la inhibición del crecimiento tumoral, en la interrupción del embarazo y en el tratamiento de infecciones por protozoarios.⁴

a) *Quimioterapia del cáncer* Los estudios clínicos en pacientes con cáncer se inició en 1979.²² Pacientes con varios tipos de tumores se han tratado con DFMO o con DFMO más metil-glioxal bis-(guanilhidrazona) (MGBG) o con estos compuestos en asociación con otros agentes quimioterapéuticos como interferón y nitrosourea.¹⁵ A pesar de los estudios muy prometedores en animales íntegros y en células en cultivo, el panorama de estos tratamientos para tumores humanos es, en general, desalentador; de manera ocasional los pacientes han mostrado regresión o no progresión del tumor, aunque en la mayoría de los casos la enfermedad ha progresado.²² Esta discrepancia entre los efectos de la DFMO en animales y en pacientes con cáncer pueden ser debidos a que es una enzima que tiene un recambio metabólico muy rápido, además de que la DFMO se elimina rápidamente por el cuerpo por excreción y su incorporación a las células (que probablemente ocurre por un mecanismo de difusión pasiva) es muy lenta. Por otro lado, hay que manejar con cuidado la toxicidad de la DFMO porque llega a provocar trombocitopenia, leucopenia y anemia, los cuales desaparecen al suspender la administración de este inhibidor. También se encuentra el hecho de que en experimentos en animales, los agentes terapéuticos generalmente se dan poco

tiempo después de la "inoculación" con células tumorales, mientras que en casos clínicos el tratamiento se da tiempo después del inicio de la enfermedad.⁴

b) *Tratamiento de infecciones parasitarias* La DFMO inhibe la replicación de varios protozoarios parásitos incluyendo algunos tripanosomas africanos, *Eimeria tenella*, *Giardia lamblia*, *Plasmodium falciparum* y *Pneumocystis carinii*; es activo contra *Trypanosoma brucei brucei* en ratones y contra cepas de *Trypanosoma congolense* que son resistentes a drogas tripanomicidas. La DFMO también es efectiva en el tratamiento de la enfermedad del sueño en humanos causada por tripanosomas africanos.²²

La razón de la sensibilidad de estos organismos a la DFMO no es muy clara. La ODC de estos parásitos es muy semejante a la ODC de las células de mamíferos. La DFMO entra por difusión pasiva a estos parásitos, así que no hay incorporación selectiva de la droga. Los efectos de la DFMO en el metabolismo de poliaminas en los tripanosomas son muy parecidos a los efectos provocados en otros eucariotes. Hay una gran disminución en la velocidad de síntesis de ácidos nucleicos en *T. brucei brucei* tratado con DFMO y la disminución de poliaminas induce cambios morfológicos. Estos cambios concuerdan con la idea de que los tripanosomas requieren poliaminas para una replicación celular normal. Se requiere una respuesta inmune intacta para la cura de tripanosomiasis con DFMO ya que aparentemente el sistema inmune puede eliminar a los parásitos cuando su replicación se disminuye por inhibición de la síntesis de poliaminas.¹⁵

Otro posible sitio de acción es la glutatión reductasa de los tripanosomas que requiere un cofactor que contiene espermidina para su actividad llamado tripanotiona; la síntesis de este cofactor puede bloquearse en células que no tienen espermidina, sin embargo, ésta no puede ser la única razón para su sensibilidad ya que la tripanotiona no está presente en *Eimeria tenella*, cuyo crecimiento se inhiben por DFMO.¹⁵

Por todo esto, está claro que la DFMO y probablemente otros inhibidores de la ODC, tienen considerable uso contra estas enfermedades causadas por protozoarios que representan importantes problemas de salud en el hombre.

c) *Efecto de la difluoro-metil-ornitina en el desarrollo embrionario* La DFMO es muy efectiva como agente abortivo si se administra en el agua para tomar durante el 5° al 8° día de gestación de ratones, o inyectando intraperitonealmente durante el 4° al 7° día de embarazo en ratas. La DFMO bloquea el desarrollo embrionario del pollo en la gastrulación y tiene efectos anticonceptivos en conejos, pero ningún estudio clínico en pacientes se ha publicado.⁴

DISCUSIÓN Y PERSPECTIVAS

Los inhibidores de la biosíntesis de las poliaminas surgieron como un sistema que puede contribuir a entender las funciones celulares de las poliaminas.

Con el conocimiento de las propiedades de las enzimas que catalizan la síntesis de las poliaminas. Se han obtenido inhibidores de todas las enzimas de la vía biosintética, por modificaciones de las moléculas que intervienen como sustratos y productos de las enzimas involucradas y que presentan diferentes mecanismos de acción (tablas II-IX).

El hecho de que algunos de ellos sean inhibidores muy potentes *in vitro* no asegura que lo sean *in vivo*, ya que entran en juego otros parámetros como son: incorporación a las células, toxicidad del inhibidor y metabolismo del mismo, de aquí que el uso de éstos como agentes quimioterapéuticos en enfermedades de rápida proliferación no han tenido todo el éxito esperado. Por ejemplo, la DFMO que es un inhibidor de la ODC muy potente *in vitro* y que es el que más se ha utilizado con fines terapéuticos, se elimina *in vivo* muy rápidamente. Esta característica junto con la vida media tan corta de la ODC, hacen que el inhibidor deba administrarse *in vivo*, en grandes cantidades para disminuir la proliferación celular a través de la inhibición de la ODC, lo cual hace que se aumente la toxicidad del inhibidor.

Otro problema que se presenta *in vivo* es la incorporación de los inhibidores a las células. Muchos de ellos pueden penetrar la barrera de la membrana celular y por lo tanto tienen un uso muy limitado. El etil-glioxal bis-(guanilhidrazona) es un buen inhibidor *in vitro* de la SAMD,

pero su incorporación a linfocitos activados es muy pequeña.³⁰ Puede suceder que el inhibidor no penetre a un determinado tipo de célula pero en otro sí, como sucede con la alfa-monofluorometil-putrescina, que penetra mejor a células de próstata de rata que a células de timo de rata.³¹ Para hacer que los inhibidores penetren la membrana celular se ha tratado de preparar derivados menos polares, como el ester de la monofluoro-metil deshidro ornitina que *in vivo* es un mejor inhibidor de la ODC de próstata de rata que la molécula no esterificada.³²

Otro punto que hay que tomar en cuenta son las diferencias en las enzimas de la biosíntesis de las poliaminas debidas a la especie. La DFMO inhibe a la ODC de *Pseudomonas aeruginosa* y no inhibe a la de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*.³³

En nuestro laboratorio se ha sintetizado el ácido 2-amino-5-yodoacetamido pentanoico que *in vitro* es un inhibidor irreversible de la ODC de hígado de rata menos efectivo que la DFMO pero que ha logrado inhibir de manera impresionante la esporulación en hongos mucorales que no se logra con la DFMO.³⁴ Además, también es capaz de inhibir el desarrollo embrionario de la rata.³⁵

En general, es muy difícil obtener un inhibidor que sea efectivo en todos los sistemas celulares en que se pruebe sin tener alguno de los inconvenientes ya mencionados.

Por lo anterior, el desarrollo de nuevos inhibidores de la biosíntesis de las poliaminas por una modificación de las moléculas de sustrato y producto con grupos reactivos no introducidos hasta ahora o por una disminución en la polaridad de las moléculas, etc., tiene un campo de acción muy amplio y con un futuro muy halagador.

RESUMEN

Las poliaminas: putrescina, espermidina y espermina, son constituyentes naturales de las células procarióticas y eucarióticas y son indispensables para el crecimiento y la proliferación celular.

El uso de inhibidores de la biosíntesis de las poliaminas ha sido muy útil para estudiar la fun-

ción fisiológica de éstas. Se han sintetizado inhibidores de la ODC modificando las moléculas de ornitina y putrescina por introducción de grupos alquílicos, de insaturaciones, de grupos funcionales en los nitrógenos alfa y delta y en el carbono alfa. La alfa-metil-ornitina y el trans-1,4-diamino butanona son los compuestos más potentes que han inhibido de manera reversible a la ODC. Dentro de los inhibidores irreversibles, la DFMO y el RR-MAP son los más efectivos para inhibir a la ODC. Entre los inhibidores de la SAMD se encuentran derivados de la espermidina y de la SAM. Los más potentes son el MGBG (inhibidor reversible), el MBAG (inhibidor irreversible) y la N-(aminopropil)-5'-amino-5'-desoxiadenosina. Los compuestos S-adenosil-1,8-diamino-3-tiooctano y ciclohexilamina son los únicos inhibidores específicos de la espermidina sintetasa. El compuesto S-metil-5'-metil-tioadenosina es el único inhibidor específico conocido con la espermina sintetasa.

Se han hecho estudios tendientes a utilizar a los inhibidores de la biosíntesis de poliaminas como agentes quimioterapéuticos en cáncer, en enfermedades parasitarias y como inhibidores del desarrollo embrionario; sin embargo, los resultados en el cáncer no han sido muy halagadores, pero en el tratamiento de enfermedades parasitarias los resultados a la fecha son bastante prometedores. Además, es probable que estos inhibidores encuentren aplicación tanto en el estudio como en el control de la fertilidad.

El desarrollo de nuevos inhibidores está justificado ya que es posible obtener inhibidores más efectivos y menos tóxicos que puedan tener una mayor utilidad en las áreas mencionadas.

SUMMARY

Putrescine, spermidine and spermine are polyamines and natural components of cells, indispensable for reproduction and growth.

The utilization of polyamine biosynthesis inhibitors has been useful in the study of cellular functions. Inhibitors of ODC have been synthesized modifying the ornitine and putrescine molecules by the introduction of alkylic groups, of functional groups in alpha and delta nitrogens and in carbon alpha. There exist also, studies ten-

ding to the utilization of inhibitors of the biosynthesis of polyamines as quimiotherapeutic agents in cancer, in parasitic diseases and as inhibitors of embryonic growth; however results in cancer have not been satisfactory but in the treatment of parasitic diseases they show promise. Furthermore it is probable that these inhibitors will find application both in the study as in the control of fertility.

The development of new inhibitors is justified since it is possible to obtain the more effective and less toxic, that may be more useful in the areas mentioned.

REFERENCIAS

1. Tabor, H. & Tabor, C.W. (1964). "Spermidine, spermine and related amines." *Pharmacol. Rev.* 16, 245-300.
2. Jänne, J., Pösö, H. & Raina, A. (1978). "Polyamines in rapid growth and cancer". *Biochim. Biophys. Acta.* 473, 241-293.
3. Boynton, A.L., Whitfield, J.F. & Walker, P.R. (1980). The possible roles of polyamines in prerreplicative development and DNA synthesis: A critical assessment of the evidence. En: *Polyamines in biomedical research.* Ed. J.M. Gaugas. J. Wiley & sons. Chichester. New York. Brisbane. Toronto. pp. 63-80
4. Tabor, C.W. & Tabor, H. (1984). Polyamines. *Ann. Rev. Biochem.* 53, 749-790.
5. Hougaard, D.M., Bolund, L., Fujiwara, K. & Larsson, L.I. (1987). Endogenous polyamines are intimately associated with highly condensed chromatin *In vivo*. A fluorescence cytochemical and immunocytochemical study of spermidine and spermine during the cell cycle and in reactivated nucleic. *Eur. J. Cell. Biol.* 44, 151-155.
6. Tabor, C.W. & Tabor, H. (1976). 1,4-diaminobutane (putrescine), spermidine, and spermine. *Ann. Rev. Biochem.* 45, 285-306.
7. Russell, D.H. & Snyder, S.H. (1968). Amine synthesis in rapidly growing tissues: ornithine decarboxylase activity in regenerating rat liver, chick embryo, and various tumors. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 60, 1420-1427.
8. Russell, D.H. & Snyder, S.H. (1969). Amine synthesis in regenerating rat liver: extremely rapid turnover of ornithine decarboxylase. *Mol. Pharmacol.* 5, 253-262.
9. Russell, D.H. (1980). Ornithine decarboxylase as a biological and pharmacological tool. *Pharmacology.* 20, 117-129.
10. Pritchard, M.L., Seely, J.E., Pösö, H., Jefferson, L.S. & Pegg, A.E. (1981). Binding of radioactive alpha-difluoromethylornithine to rat liver ornithine decarboxylase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 100, 1597-1603.
11. Ono, M., Inoue, H., Suzuki, F. & Takeda, Y. (1972). Studies on ornithine decarboxylase from the liver of thioacetamide-treated rats. Purification and some properties. *Biochim. Biophys. Acta.* 284, 285-297.
12. Heller, J.S. & Canellakis, E.S. (1981). Cellular control of ornithine decarboxylase activity by its antizyme. *J. Cell Physiol.* 107, 209-217.
13. Tabor, C.W. & Tabor, H. (1984). Methionine adenosyl transferase (S-adenosylmethionine synthetase) and S-adenosylmethionine decarboxylase. *Adv. Enzymol. Relat. Areas. Mol. Biol.* 56, 251-282. 251-282.
14. Raina, A., Hyvönen, T., Eloranta, T., Voutilainen, M., Samejima, K. & Yamanoha, B. (1984). Polyamine synthesis in mammalian tissues. Isolation and characterization of spermidine synthase from bovine brain. *Biochem. J.* 219, 991-1000.
15. Pegg, A.E. (1986). Recent advances in the biochemistry of polyamines in eukariotes. *Biochem. J.* 234, 249-262.
16. Pajula, R.L. (1983). Kinetic properties of spermine synthase from bovine brain. *Biochem. J.* 215, 669-676.
17. Stevens, L. & Stevens, E. (1980). Inhibitors of the biosynthesis of putrescine, spermidine and spermine. En: *Polyamines in biomedical research.* Ed. J.M. Gaugas. J. Wiley & sons. Chichester. New York. Brisbane. Toronto. pp. 167-183.
18. Mamont, P.S., Böhlen, P., McCann, P., Bey, P., Schuber, F. & Tardif, C. (1976). Alpha-methyl ornithine, a potent competitive inhibitor of ornithine decarboxylase, blocks proliferation of rat hepatoma cells in culture. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 73, 1626-1630.
19. Bey, P., Danzin, C., Van Dorsselaer, V., Mamont, P., Jung, M. & Tardif, C. (1978). Analogues of ornithine as inhibitors of ornithine decarboxylase. New deductions concerning the topography of the enzyme's active site. *J. Med. Chem.* 21, 50-55.
20. Rahiala, E.L., Kekomäki, M., Jänne, J., Raina, A. & Rähä, N.C.R. (1971). Inhibition of pyridoxal enzymes by L-canaline. *Biochim. Biophys. Acta.* 227, 337-343.
21. Typton, K.F. (1980). Kinetics and enzyme inhibition studies. En: *Enzyme inhibitors as drugs.* Ed. M. Sandler. MacMillan Press. London. pp. 1-23.
22. Sjoerdsma, A. & Schechter, P.J. (1984). Chemotherapeutic implications of polyamine biosynthesis inhibition. *Clin. Pharmacol. Ther.* 35, 287-300.
23. William-Ashman, H.G. & Schenone, A. (1972). Methyl glyoxal bis(guanylhydrazone) as a potent inhibitor of mammalian and yeast S-adenosylmethionine decarboxylases. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 46, 288-295.
24. Corti, A., Dave, C., William-Ashman, H.G., Mihich, E. & Schenone, A. (1974). Specific inhibition of the enzymic decarboxylation of S-adenosylmethionine by methylglyoxal bis(guanylhydrazone) and related substances. *Biochem. J.* 139, 351-353.
25. Pankaskie, M., Abdel Monem, M.M. (1980). Inhibitors of polyamine biosynthesis. 8. Irreversible inhibition of mammalian S-adenosyl-L-methionine decar-

- boxylase by substrate analogues. *J. Med. Chem.* **23**, 121-127.
26. Kolb, M., Danzin, C., Barth, J. & Claverie, N. (1982). Synthesis and biochemical properties of chemically stable product analogues of the reaction catalized by S-adenosyl-L-methionine decarboxylase. *J. Med. Chem.* **25**, 550-556.
 27. Hibasami, H., Borchardt, R.T., Chen, S.Y., Coward, J.K. & Pegg, A.E. (1980). Studies of inhibition of rat spermidine synthase and spermine synthase. *Biochem. J.* **187**, 419-428.
 28. Tang, K.C., Mariuzza, R. & Coward, J.K. (1981). Synthesis and evaluation of some stable multisubstrate adducts as specific inhibitors of spermidine synthase. *J. Med. Chem.* **24**, 1277-1284.
 29. Pegg, A.E. & McCann, P.P. (1982). Polyamine metabolism and function. *Am. J. Physiol.* **243**, C212-C221.
 30. Jänne, J. & Morris, D.R. (1984). Inhibition of S-adenosylmethionine decarboxylase and diamine oxidase activities by analogues of methylglyoxal bis (guanyldiazirone) and their cellular uptake during lymphocyte activation. *Biochem. J.* **218**, 947-951.
 31. Danzin, C., Bey, P., Schirlin, D. & Claverie, N. (1982). Alpha-monofluoromethyl and alpha-difluoromethyl putrescine as ornithine decarboxylase inhibitors: *In vitro* and *In vivo* biochemical properties. *Biochem. Pharmacol.* **31**, 3871-3878.
 32. Mamont, P.S., Danzin, C., Kolb, M., Gerhart, F., Bey, P. & Sjoerdsma, A. (1986). Marked and prolonged inhibition of mammalian ornithine decarboxylase *in vivo* by esters of (E)-2-(fluoromethyl)dehydroornithine. *Biochem. Pharmacol.* **35**, 159-165.
 33. Kallio, A. & McCann, P.P. (1981). Difluoromethylornithine irreversibly inactivates ornithine decarboxylase of *Pseudomonas aeruginosa*, but not inhibits the enzymes of *Escherichia coli*. *Biochem. J.* **200**, 69-75.
 34. Calvo-Méndez, C. & Ruiz-Herrera, J. (1984). Posible papel de la ornitina descarboxilasa en el desarrollo y dimorfismo en los hongos. XV Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Bioquímica, A.C. Del 11 al 15 de Noviembre. Morelia, Michoacán. p 336.
 35. Méndez, J.D., Yañez, R., Wong, C. & Hicks, J.J. (1986). Uterine Arginase inhibition affect the rat embryonic development. *Contraception.* **33**, 597-604.

TABLA II. ANALOGOS ESTRUCTURALES DE LA ORNITINA QUE INHIBEN A LA ORNITINA DESCARBOXILASA.

COMPUESTO	ESTRUCTURA	FUENTE DE ODC	Ki (M)	TIPO DE INHIBICION	REF.
α -hidracino-ornitina		Próstata de rata <u>E.coli</u>	2×10^{-6} 5×10^{-7}	Competitivo Competitivo	17
α -metil(Δ)-ornitina		Próstata de rata	2×10^{-5}	Competitivo	17
α -etil(Δ)-ornitina		Próstata de rata	5.3×10^{-3}	Competitivo	17
α -n-propil(Δ)-ornitina		Próstata de rata	7.8×10^{-3}	Competitivo	
α -n-butil(Δ)-ornitina		Próstata de rata	1.1×10^{-2}	Competitivo	
α -n-hexil(Δ)-ornitina		Próstata de rata	4.7×10^{-3}	Competitivo	
α -n-octil(Δ)-ornitina		Próstata de rata	2.3×10^{-3}	Competitivo	
α -n-bencil(Δ)-ornitina		Próstata de rata	5.3×10^{-3}	Competitivo	
α -hidracino- α -metil ornitina		Próstata de rata	3×10^{-6}	Competitivo	17
trans-3-deshidro-D,L-ornitina		Hígado de rata	2.2×10^{-6}	Competitivo	17
δ -N-metil- α -metil-ornitina		Hígado de rata	0.5×10^{-3}	Competitivo	19
δ -N-aminopropil- α -metil-ornitina		Próstata de toro	4.4×10^{-3}	Competitivo	
α -metil-L-ornitina		Hígado de rata	1.9×10^{-5}	Competitivo	
α -metil-D-ornitina		Hígado de rata	1.3×10^{-3}	Competitivo	
δ -N-aminopropil-ornitina		Próstata de toro	5.5×10^{-3}	Competitivo	
Tetrazolil-ornitina		Hígado de rata	0.12×10^{-3}	Competitivo	19
Acido trans-1,4-diamino-ciclohexan-1-carboxílico		Hígado de rata	0.07×10^{-3}	Competitivo	19

TABLA III. ANALOGOS ESTRUCTURALES DE LA PUTRESCINA QUE INHIBEN A LA ORNITINA DESCARBOXILASA.

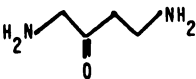
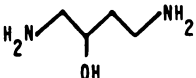

COMPUESTO	ESTRUCTURA	FUENTE DE ODC	Ki (M)	TIPO DE INHIBICION	REF.
1,4-diamino-butanona		<u>A.nidulans</u>	0.91×10^{-6}	Competitivo	17
2-hidroxi-putrescina		<u>A.nidulans</u>	0.06×10^{-3}	Competitivo	17
trans-1,4-diamino-2-buteno		Hígado de rata	2×10^{-6}	Competitivo	17

TABLA IV. SUBSTANCIAS QUE INTERACCIONAN O SON ANALOGOS DEL FOSFATO DE PIRIDOXAL Y QUE INHIBEN A LA ORNITINA DESCARBOXILASA.

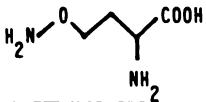
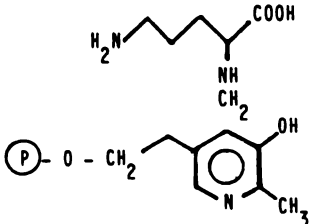
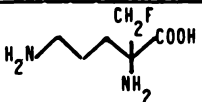

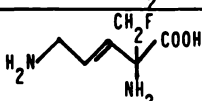
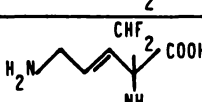


COMPUESTO	ESTRUCTURA	FUENTE DE ODC	I ₅₀ (M)	TIPO DE INHIBICION	REF.
Canalina		Hígado de rata	1.5×10^{-4}		20
N-(5'-fosfopiridoxal)-ornitina		Hígado de rata		No competitivo	17

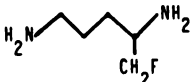
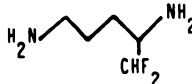
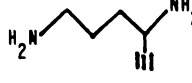



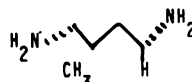
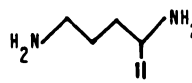
TABLA V. ANALOGOS DE LA ORNITINA QUE INHIBEN IRREVERSIBLEMENTE A LA ORNITINA DESCARBOXILASA

COMPUESTO	ESTRUCTURA	FUENTE DE ODC	K_1^1 (M)	$t_{1/2}^2$ (min)	REF.
α -monofluoro-metil-ornitina		Hígado de rata	75×10^{-6}	1.6	22
α -difluoro-metil-ornitina		Hígado de rata	39×10^{-6}	3.0	22
α -monofluoro-metil-deshidro-ornitina		Hígado de rata	30×10^{-6}	2.6	22
α -difluoro-metil-deshidro-ornitina		Hígado de rata	2.7×10^{-6}	2.6	22
α -acetilen-ornitina		Hígado de rata	10×10^{-6}	8.5	22
α -vinil-ornitina		Hígado de rata	810×10^{-6}	27	22

¹ K_1 = Constante de disociación aparente.

² $t_{1/2}$ = Vida media de inactivación de la enzima a concentración infinita de inhibidor.

TABLE VI. ANALOGOS DE LA PUTRESCINA QUE INHIBEN IRREVERSIBLEMENTE A LA ORNITINA DESCARBOXILASA.

COMPUESTO	ESTRUCTURA	FUENTE DE ODC	K_I^1 (M)	$t_{1/2}^2$ (min)	REF.
α -monofluoro-metil-putrescina		Hígado de rata	56×10^{-6}	4.4	22
α -difluoro-metil-putrescina		Hígado de rata	30×10^{-6}	7.4	22
α -acetilen-putrescina		Hígado de rata	2.3×10^{-6}	9.7	22
α -acetilen-deshidro-putrescina		Hígado de rata	1×10^{-6}	5.0	22
α -monofluoro-metil-deshidro-putrescina		Hígado de rata	42×10^{-6}	0.2	22
α -difluoro-metil-deshidro-putrescina		Hígado de rata	60×10^{-6}	0.7	22
(2R,5R)- δ metil-acetilen-putrescina		Hígado de rata	3×10^{-6}	1.7	22
α -vinil-putrescina		Hígado de rata	540×10^{-6}	10	22

¹ K_I = Constante de disociación aparente.

² $t_{1/2}$ = Vida media de inactivación de la enzima a concentración infinita de inhibidor.

TABLA VII. ANALOGOS DE LA ESPERMIDINA QUE INHIBEN A LA S-ADENOSIL-METIONINA DESCARBOXILASA.

COMPUESTO	ESTRUCTURA	FUENTE DE SAMD	INHIBICION (%)	TIPO DE INHIBICION	REF.
	$ \begin{array}{c} R_1-NH \\ \diagdown \\ C \\ \diagup \\ NH \\ \end{array} -N(R_2)-N(R_3)-(CH_2)_n- \begin{array}{c} C \\ \diagup \\ NH \\ \end{array} -N(R_5)-C(R_4)-NH-R_6 $				
Metil-glioxal bis-(guanil hidrazona)	$R_1 = H$ $R_4 = CH_3$ $R_2 = H$ $R_5 = H$ $R_3 = H$ $R_6 = H$ $n = 0$	Próstata de rata	100% a 0.01 mM	Competitivo	25
Dimetil-glioxal bis-(guanil hidrazona)	$R_1 = H$ $R_4 = CH_3$ $R_2 = H$ $R_5 = H$ $R_3 = CH_3$ $R_6 = H$ $n = 0$	Próstata de rata	100% a 0.01 mM	Competitivo	24
Etil-glioxal bis-(guanil hidrazona)	$R_1 = H$ $R_4 = C_2H_5$ $R_2 = H$ $R_5 = H$ $R_3 = H$ $R_6 = H$ $n = 0$	Próstata de rata	100% a 0.01 mM	Competitivo	24
Propano dialdehído bis-(guanil hidrazona)	$R_1 = H$ $R_4 = H$ $R_2 = H$ $R_5 = H$ $R_3 = H$ $R_6 = H$ $n = 1$	Próstata de rata	35% a 1 mM	Competitivo	24
Pentano dialdehído bis-(guanil hidrazona)	$R_1 = H$ $R_4 = H$ $R_2 = H$ $R_5 = H$ $R_3 = H$ $R_6 = H$ $n = 3$	Próstata de rata	75% a 1 mM	Competitivo	24
Di-N'''-metil-glioxal bis-(guanil hidrazona)	$R_1 = CH_3$ $R_4 = CH_3$ $R_2 = H$ $R_5 = H$ $R_3 = H$ $R_6 = CH_3$ $n = 0$	Próstata de rata	95% a 1 mM	Competitivo	24
Di-N'''-metil-glioxal bis-(guanil hidrazona)	$R_1 = H$ $R_4 = CH_3$ $R_2 = CH_3$ $R_5 = CH_3$ $R_3 = H$ $R_6 = H$ $n = 0$	Próstata de rata	100% a 0.01 mM	Competitivo	24
Metil-glioxal bis-(3-amino guanidina)	$R_1 = NH_2$ $R_4 = CH_3$ $R_2 = H$ $R_5 = H$ $R_3 = H$ $R_6 = NH_2$ $n = 0$	Hígado de rata	IRREVERSIBLE		17

TABLA VIII. ANALOGOS DE S-ADENOSIL-METIONINA QUE INHIBEN A LA S-ADENOSIL-METIONINA DESCARBOXILASA.

COMPUESTO	ESTRUCTURA	FUENTE DE SAMD	Ki (M)	TIPO DE INHIBICION	REF.
	<p>Adenina</p>				
5'-amino-5'-desoxi-adenosina	R = -NH ₂	Hígado de rata	2 x 10 ⁻⁴	Competitivo	26
S-Adenosil-α-metil-metionina		Hígado de rata	1.8 x 10 ⁻⁴	Competitivo	25
S-Adenosil-α-metil-metionina descarboxilada		Hígado de rata	1.2 x 10 ⁻⁴	Competitivo	25
N-(aminopropil)-N-metil-5'-amino-5'-desoxiadenosina		Hígado de rata	1.1 x 10 ⁻⁴	Competitivo	25
N-(aminopropil)-5'-amino-5'-desoxiadenosina	R = -NH-CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -NH ₂	Hígado de rata	5.0 x 10 ⁻⁵	Competitivo	26
N-(aminoetil)-5'-amino-5'-desoxiadenosina	R = -NH-CH ₂ -CH ₂ -NH ₂	Hígado de rata	7.0 x 10 ⁻⁵	Competitivo	26
N-(cianoetil)-N-metil-5'-amino-5'-desoxiadenosina		Hígado de rata	3.0 x 10 ⁻⁴	Competitivo	26
N-((3-aminometil)propil)-5'-amino-5'-desoxiadenosina	R = -NH-CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -NH-CH ₃	Hígado de rata	6.0 x 10 ⁻⁴	Competitivo	26
5'-guanidino-5'-desoxi-adenosina	R = -NH-C(=NH)-NH ₂	Hígado de rata	8.0 x 10 ⁻⁵	Competitivo	26

TABLA IX. SUBSTANCIAS QUE INHIBEN A LA ESPERMIDINA Y ESPERMINA SINTETASAS.

COMPUESTO	ESTRUCTURA	INHIBICION (%)		REF.
		ESPERMIDINA SINTETASA	ESPERMINA SINTETASA	
S-Adenosil-metionina		88% a 1 mM	95% a 1 mM	27
S-Adenosil-etionina		91% a 1 mM	93% a 1 mM	27
S-Adenosil-4-metil-tiobutirico		98% a 1 mM	97% a 1 mM	27
5'-metil-tioadenosina	R = - S - CH ₃	95% a 1 mM	99% a 1 mM	27
5'-etil-tioadenosina	R = - S - CH ₂ CH ₃	95% a 1 mM	97% a 1 mM	27
Sulfona de S-adenosil-homocisteína		99% a 1 mM	84% a 1 mM	27
S-adenosil-1,8-diamino-3-tiooctano		99% a 0.1 mM	15% a 0.1 mM	28
S-Adenosil-1,8-diamino-3-(metil-tio)-octano		92% a 0.1 mM	59% a 0.1 mM	28
S-metil-5'-metil-tio-adenosina	R = - S - CH ₃	10% a 0.1 mM	96% a 0.1 mM	15
Ciclohexil-amina		95% a 0.1 mM	10% a 0.1 mM	15