

300627

29

2ej



UNIVERSIDAD LA SALLE

ESCUELA DE QUIMICA
Incorporada a la U.N.A.M.

POLIAMINAS Y SUPERPOLIAMINAS

T E S I S P R O F E S I O N A L
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE :
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A :

ALICIA VERONICA SILVA TURBAY

México, D.F.

1989



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

ESTA TESIS FUE REALIZADA BAJO LA
DIRECCION DEL M. EN C. JOSE DO -
MINGO MENDEZ.

INDICE

1. RESUMEN	1
2. OBJETIVO	2
3. INTRODUCCION	3
4. GENERALIDADES	5
5. BIOSINTESIS E INHIBICION DE POLIAMINAS ALIFATICAS	9
6. INTERACCION DE POLIAMINAS ALIFATICAS CON OTRAS MOLECULAS	22
-INTERACCION CON EL DNA	24
-INTERACCION CON EL RNA	25
-INTERACCION CON LOS RIBOSOMAS	29
-POLIMERIZACION DE ACTINA	30
7. SUPERPOLIAMINAS	32
8. INTERACCION DE POLIAMINAS MACROCICLICAS CON MACROMOLECULAS	33
-RECEPTORES ESPECIFICOS	33
-POLIANIONES BIOLOGICOS	35
-HIDROLISIS DE ATP	37
-POLIMERIZACION DE ACTINA	39
-RECEPTOR DE CARBONATO	41
-MOLECULAS RECEPTORAS ANIONICAS	43
9. CONCLUSIONES	46
10. BIBLIOGRAFIA	47

RESUMEN

La putrescina, espermidina y espermina son poliaminas naturales que se encuentran en todos los sistemas celulares.

Su presencia es necesaria para la regulación de múltiples procesos tales como división, proliferación y diferenciación celulares entre otros.

La función biológica ha sido estudiada en microorganismos, en células vegetales y animales; en donde se ha encontrado que éstas aminas son factores de crecimiento.

Las superpoliaminas presentan actividad mayor que las poliaminas naturales, ya que interaccionan con diversas moléculas tales como actina, ATP y ácidos nucleicos.

Se ha demostrado que el uso de estas poliaminas macrocíclicas pueden mejorar los procesos biológicos de una manera más eficiente que las poliaminas naturales.

OBJETIVO

Revisar las propiedades y función de las poliaminas alifáticas y de las Superpoliaminas a fin de entender los mecanismos mediante los cuales participan en la regulación de diversos procesos celulares.

INTRODUCCION

Todas las células procariotas y eucariotas sintetizan poliaminas. Las poliaminas : putrescina, espermidina y espermina son bases nitrogenadas no proteicas de pesos moleculares bajos; que se encuentran distribuidas ampliamente en los sistemas vivientes; lo que quizá constituye un indicativo de que su presencia es esencial para la realización de los procesos básicos de la función celular. (65).

El interés por su estudio se ha incrementado en los últimos años debido a que se ha demostrado su presencia en altas concentraciones en todos aquellos sistemas celulares que presentan proliferación y crecimiento rápidos, estando involucradas en procesos de duplicación, transcripción y traducción entre otros; así como su interacción con los ácidos nucleicos y los ribosomas y su influencia en la síntesis de proteínas. (60,66,77).

La mayor parte de la información sobre la biosíntesis, regulación y participación fisiológica de las poliaminas, ha sido obtenida a partir de estudios realizados en microorganismos y células de mamíferos. (68,72,73).

La ruta principal para la síntesis de poliaminas es utilizando el aminoácido L - ornitina y S - adenosilmetionina, en donde en un paso es transferido el grupo α - aminopropilo para dar putrescina. (59).

La inhibición específica de la biosíntesis de poliaminas puede ser un medio para el control de algunos estados patológicos. (3).

Muchos estudios sugieren que las poliaminas sirven como promotores de crecimiento para una variedad de microorganismos. (1).

Para el crecimiento ininterrumpido de muchas células se requieren niveles normales de putrescina, espermidina y espermina, además de que estas poliaminas mejoran la eficiencia y fidelidad de ciertos procesos metabólicos, acelerando el ciclo de progresión celular.

Se han hecho diversos estudios y existe por lo tanto bastante información sobre el papel fisiológico y bioquímico de las poliaminas alifáticas.

Estudios recientes muestran la presencia de otro tipo de poliaminas denominadas " Superpoliaminas " ó " Poliaminas Macrocíclicas "; las cuales son moléculas

de pesos moleculares altos cuya característica principal es la de comportarse como receptores aniónicos. Estas moléculas son capaces de formar complejos muy estables con diversas moléculas, en especial exhiben selectividad hacia los nucleótidos, en donde se ha demostrado que el complejo formado es mucho más fuerte y estable que el que se produce con las poliaminas alifáticas.

Otra característica importante es que inducen la polimerización de actina de manera más eficiente que las poliaminas naturales. (78,80).

De acuerdo a los estudios realizados de sus interacciones con ácidos nucleicos, actina y otras macromoléculas, se puede decir que los procesos de crecimiento, síntesis de proteínas, etc. son mucho más eficientes en presencia de las Superpoliaminas, lo que puede ser de gran utilidad para ayudar a la realización de algunos procesos biológicos.

Son pocos los estudios realizados hasta ahora sobre poliaminas macrocíclicas pero son de gran importancia para el avance científico.

GENERALIDADES

Las poliaminas han sido estudiadas con gran interés ya que son constituyentes celulares normales. (19).

La putrescina, espermina y espermidina constituyen el grupo de poliaminas más conocido, aunque existen otras aminas que han sido estudiadas en varios sistemas biológicos, (Tabla 1).

Estas aminas además de encontrarse en forma de bases alifáticas libres, pueden existir conjugadas con azúcares, esteroides, fosfolípidos y péptidos, y también, como unidades subestructurales dentro de numerosas familias de alcaloides.

Están ampliamente distribuidas en los sistemas biológicos aunque sus concentraciones relativas varían notablemente en células diferentes. En general los procariotes tienen más alta concentración de putrescina y menor de espermidina y carecen de espermina. Los eucariotes tienen bajas concentraciones de putrescina y mayores concentraciones de espermina y espermidina. (34,56).

Algunos estudios realizados sobre poliaminas en células de mamíferos y aves a nivel embrionario, ha permitido relacionar estos compuestos con los cambios en el RNA, lo que nos indica que las poliaminas juegan un papel muy importante en la regulación de la síntesis de RNA. (64).

En relación con los microorganismos, se sabe que las bacterias Gram negativas contienen más altas concentraciones de poliaminas que las Gram positivas.

La localización de las poliaminas en los componentes celulares se ve obstaculizada por la alta afinidad de estos compuestos con varias sustancias ácidas, tales como fosfolípidos y ácidos nucleicos. Sin embargo, en las células bacterianas ha demostrado que los tres principales sitios donde se encuentran enlazadas las poliaminas son :

- a) Ribosomas y t-RNA.
- b) DNA.
- c) Pared celular y membranas. (51).

La putrescina es el precursor de la síntesis de la espermidina y de la espermina; en las células animales esta diamina se obtiene de la ornitina, sin embar-

TABLA 1

ESTRUCTURA DE LAS PRINCIPALES POLIAMINAS

AMINA	ESTRUCTURA	DISTRIBUCION
1,3-Diaminopropano	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$	Restringida
Putrescina	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$	Abundante
Cadaverina	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_5\text{NH}_2$	Restringida
Agmatina	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_4\underset{\text{NH}}{\underset{ }{\text{N}}}-\text{C}-\text{NH}_2$	Abundante
Espermidina	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$	Abundante
Espermina	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$	Abundante
Arcaína	$\text{NH}_2-\underset{\text{NH}}{\underset{ }{\text{C}}}-\text{NH}(\text{CH}_2)_4\underset{\text{NH}}{\underset{ }{\text{N}}}-\text{C}-\text{NH}_2$	Moluscos
Norespermidina o Caldina	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$	Nabo Amarillo bacterias termófi- las.
Symphomespermidina	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_4\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$	Arbol del sandalo
Norespermina o Termina	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$	Bacterias termófi- las extremas.
Termoespermina	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$	Bacterias termófi- las extremas.

go, en las células vegetales superiores y en bacterias y hongos puede obtenerse a partir de agmatina que a su vez es producida por la descarboxilación de la arginina.

En los mamíferos la ornitina disponible para estas reacciones proviene del plasma y también puede formarse dentro de las células por la acción de la arginasa, razón que lleva a pensar que la arginasa puede ser una de las enzimas que regulan la etapa inicial en la síntesis de poliaminas, debiendo recordar que su participación fisiológica tradicionalmente estudiada se relaciona con el ciclo de la urea. (54,57).

Para la biosíntesis de espermidina es necesario la adición de un grupo propilamina, además de ATP, iones Mg y dos enzimas esenciales que son la S - adenosilmetionina descarboxilasa y la espermidina sintetasa.

La síntesis de espermina se lleva a cabo por la acción de la espermina sintetasa, la cual involucra la incorporación de grupos de propilamina.

Recientemente se han reportado los mecanismos reguladores de otra serie de poliaminas, las poliaminas " Macrocíclicas ".

La estructura de estas poliaminas es cíclica, las cuales van desde formas sencillas hasta estructuras más complejas. Estas moléculas están formadas generalmente por átomos de nitrógeno y oxígeno, en forma de grupos amino, carboxilo, epóxidos, etc.

Hasta ahora no se ha encontrado ningún indicio de su existencia en sistemas vivientes, todas estas formas son sintéticas.

Este tipo de poliaminas presentan características muy importantes para los procesos biológicos. Uno de los aspectos más estudiados es la capacidad que tienen de inducir la polimerización de actina. (76).

Las poliaminas naturales inducen la polimerización de actina con una eficiencia que aumenta con el número y separación de sitios catiónicos. (74).

Las poliaminas macrocíclicas pueden ser capaces de producir efectos similares con una mayor eficiencia que las naturales.

Las Superpoliaminas se comportan como policationes específicos, es decir,

son receptores aniónicos los cuales son capaces de formar complejos fuertes y selectivos con una variedad de aniones orgánicos e inorgánicos.

Poseen dos propiedades importantes que son la activación de la Mg-ATPasa de la miosina para formar el complejo Poliamina-F-actina y la formación de complejos estables 1:1 con policarboxilatos.

Estas poliaminas exhiben selectividad hacia los nucleótidos de una manera diferente que las naturales.

Es de interés particular ver que las poliaminas interactúan con los nucleótidos de la misma manera que lo hace el Mg, y estas interacciones poliamina-nucleótido son lo suficientemente fuertes como para afectar las interacciones Mg-nucleótido. Esto es debido a que el complejo formado entre Mg y nucleótido es inflexible. En cambio las interacciones entre poliamina-nucleótido son variables y múltiples debido a la estructura molecular flexible de las poliaminas. (79).

El estudio de las poliaminas es de suma importancia, pues numerosos trabajos sugieren su participación en el control de la síntesis de ácidos nucleicos, así como el desempeño de las funciones regulatoras importantes relacionadas probablemente con su naturaleza básica y su habilidad para unirse con otros compuestos orgánicos, tales como fosfolípidos en las membranas o con los ácidos nucleicos. Además de que participan en la regulación de procesos tales como síntesis de proteínas, crecimiento celular, multiplicación y diferenciación entre los más conocidos.

BIOSINTESIS DE POLIAMINAS ALIFATICAS

En los mamíferos la biosíntesis de poliaminas se lleva a cabo a partir de ornitina (Figura 1), en donde a través de la enzima ornitina descarboxilasa (ODC) se conduce a la formación de putrescina. (2,6,13).

La ornitina disponible para estas reacciones proviene del plasma y también puede formarse dentro de las células por la acción de la arginasa. Es posible que esta enzima ampliamente distribuida se encuentre presente en tejidos extrahepáticos para facilitar la disponibilidad de ornitina para la biosíntesis de poliaminas. Por esta razón, se ha pensado que la arginasa puede ser una de las enzimas que regulan la etapa inicial en la biosíntesis de poliaminas. (60).

La biosíntesis de putrescina a partir de arginina, se lleva a cabo vía las reacciones A o B (Figura 2). Ambos caminos conducen a la formación de urea. (10,15).

La reacción A es catalizada por la arginasa, que convierte la arginina en ornitina, la cual es fácilmente metabolizada a putrescina por la ornitina descarboxilasa.

La reacción B involucra la descarboxilación de la arginina a agmatina, catalizada por la enzima arginina descarboxilasa (ADC) y una hidrólisis subsecuente por la enzima agmatina ureohidrolasa (AUH) para producir urea y putrescina.

Las células de mamíferos y muchos eucariotes primitivos carecen de ADC y por consiguiente, la única ruta para obtener putrescina es por descarboxilación de ornitina.(21,26).

La ODC es una enzima universal, cuya actividad depende del fosfato de piridoxal. Se encuentra en niveles bajos en las células en estados fisiológicos de latencia. Su actividad puede aumentarse como respuesta a diversos estímulos tales como hormonas, drogas, regeneración de tejidos y factores de crecimiento. (18,78).

Para la conversión de putrescina en espermidina es necesario la adición de un grupo de propilamina.(10). Este grupo deriva de la metionina, la cual primero es convertida en S - adenosilmetionina y luego descarboxilada enzimáticamente por la S - adenosilmetionina descarboxilasa (SAND). El producto de dicha descarbo-

xilación es la S - adenosilhomocisteamina, la cual es un donador de grupos de propilamina ($-(CH_2)_3-NH_2$) para la síntesis de espermidina y espermina. La producción de S - adenosilhomocisteamina se mantiene baja y constituye el factor limitante en la formación de espermidina. (27).

Otra enzima esencial para la formación de espermidina es la espermidina sintetasa la cual transfiere la parte del amino propilo del SAM descarboxilada a la putrescina para formar la espermidina y tiometiladenosina, la cual se hidroliza por acción de la enzima metiltioadenosina fosforilasa. La adenina que resulta de esta reacción se recupera como nucleósido. (6,31). (Figura 3).

Las células de mamífero contienen todas las enzimas para la biosíntesis de poliaminas pero hay unas líneas de células tumorales que carecen de metiltioadenosina fosforilasa y excretan la metiltioadenosina producida en la biosíntesis.

La SAM de los mamíferos es activada por putrescina y reprimida por espermidina, esta enzima que depende del piruvato como cofactor, está presente en los tejidos en muy bajas concentraciones. Sin embargo su actividad también es regulada por muchas hormonas y otros estímulos que promueven el crecimiento.

También la síntesis de la espermina se lleva a cabo mediante la incorporación de grupos de propilamina utilizando como enzima a la espermina sintetasa.(Fig.4).

Se ha demostrado que las reacciones catalizadas por la espermidina sintetasa y espermina sintetasa son irreversibles y que la conversión de espermina en espermidina y de la espermidina en putrescina ocurre in vivo.(31). Esta interconversión tiene lugar por la acción de las enzimas : (67)

- a) Espermidina - N - acetiltransferasa
- b) Poliamina oxidasa.

(Figura 1).

La primera enzima utiliza acetil - CoA para convertir a la espermidina en N-acetil espermidina y también acetila espermina formando N-acetil espermina.

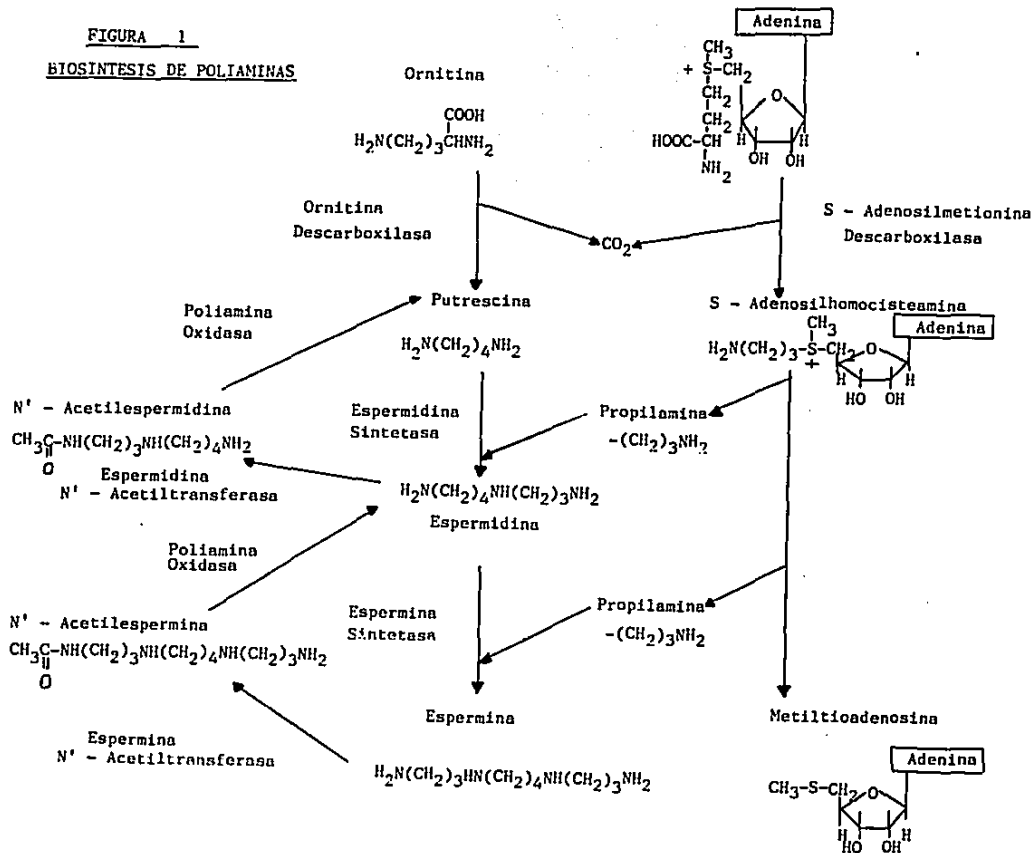
Estos derivados acetilados son buenos sustratos para la poliamina oxidasa que los utiliza de manera eficiente hidrolizando a nivel de nitrógeno interno para dar N-acetilpropionaldehído y putrescina o espermidina dependiendo del sustra-

to. En virtud de que en condiciones fisiológicas los derivados acetilados son metabolizados rápidamente se ha propuesto que la acetilación es el paso limitante en esta interconversión y se ha demostrado que la espermidina-N-acetil transferasa es rápidamente inducida y se incrementa marcadamente después de la exposición a agentes tóxicos que resaltan la conversión de espermidina en putrescina y de espermina en espermidina. (16).

Por otra parte, la putrescina puede ser oxidada por la diamina oxidasa (31), produciendo δ - aminobutiraldehído en lugar de convertirse a espermidina; este aldehído puede ser oxidado a δ - aminobutirato (GABA) , o dar origen a com--puestos cíclicos. (10). Por otro lado, la putrescina puede también ser acetilada por una enzima microsomal y la monoacetil putrescina ser oxidada por una monoami--na oxidasa para producir GABA, lo cual puede ocurrir en tejidos como el cerebro que tienen baja actividad de diamina oxidasa. (Figura 5).

FIGURA 1

BIOSINTESIS DE POLIAMINAS



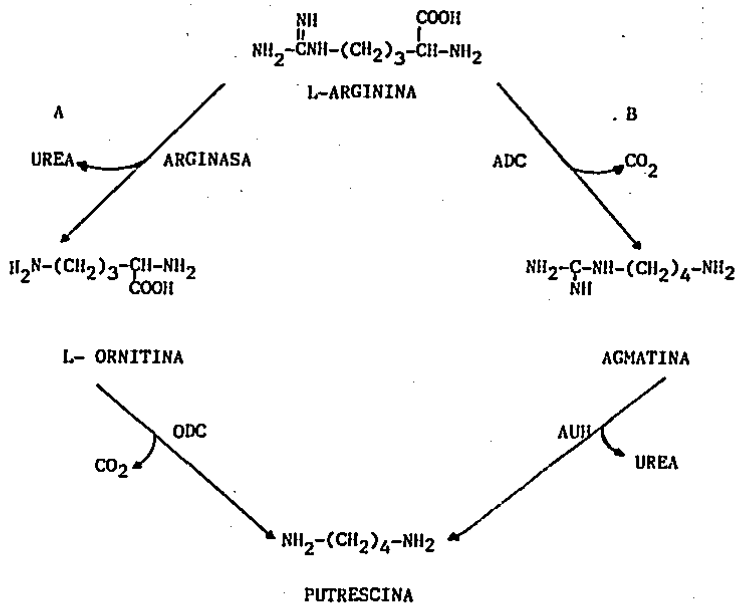
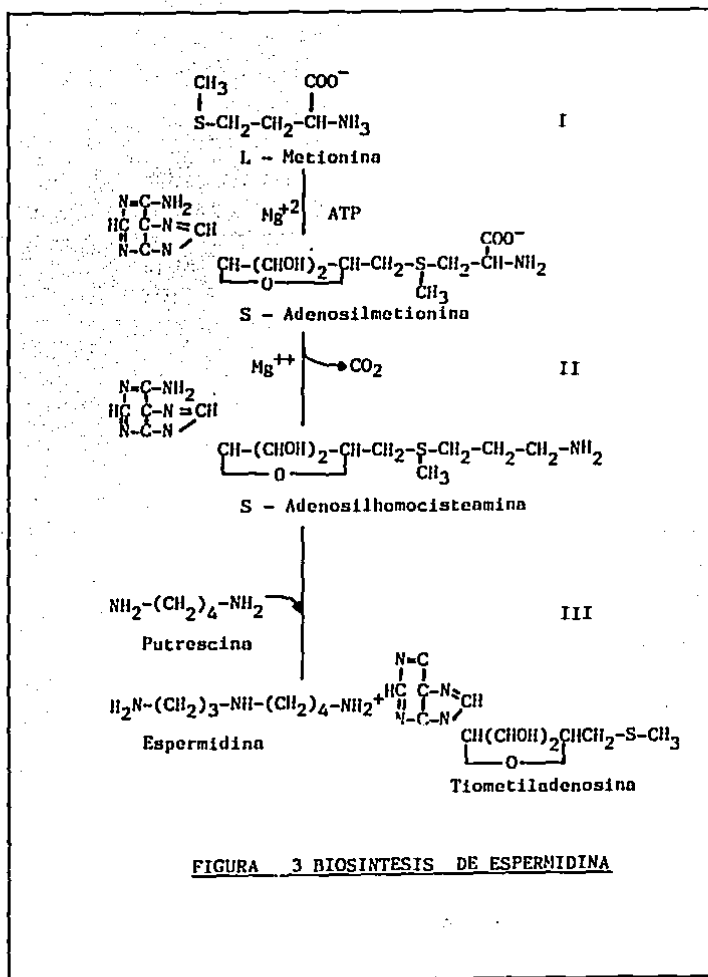


FIGURA 2 BIOSINTESIS DE PUTRESCINA.



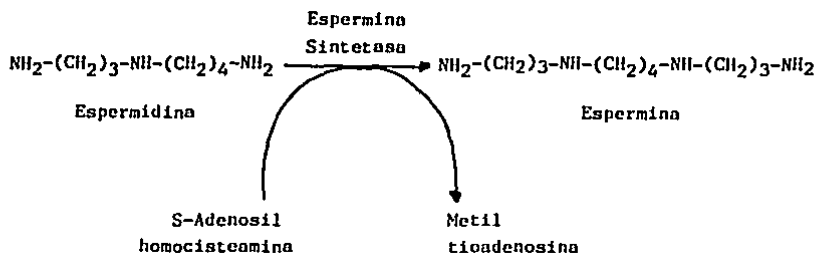
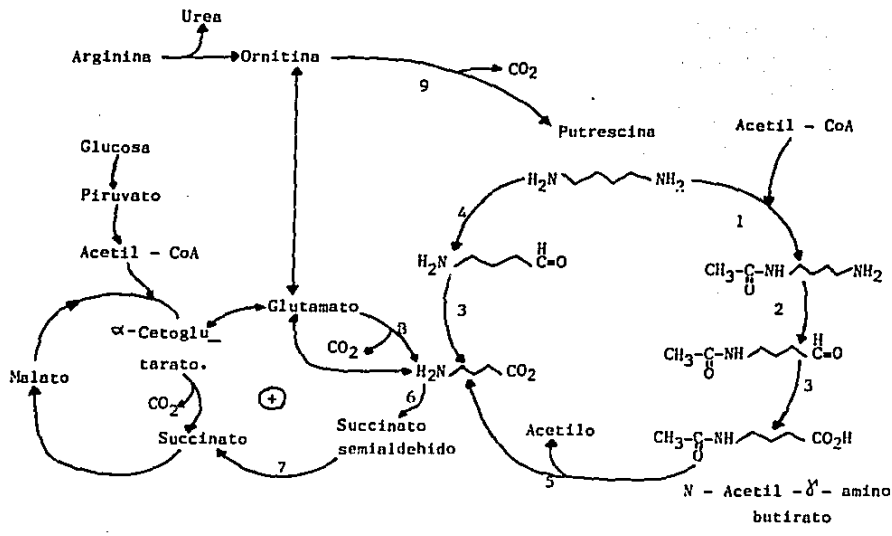


FIGURA 4 BIOSINTESIS DE ESPERMINA



⊕ Lanzadera del δ -aminobutirato.

FIGURA 5 CATABOLISMO DE PUTRESCINA VIA ACIDO δ -AMINO BUTIRICO

1. Acetil-CoA-1,4-diaminobutano N-acetiltransferasa.
2. Monoamina oxidasa.
3. Aldehído deshidrogenasa.
4. Diamina oxidasa.
5. Enzima desacetilante de δ -aminobutirato.
6. δ -aminobutirato 2-cetoglutarato aminotransferasa.
7. Succinato semialdehído deshidrogenasa.
8. Glutamato descarboxilasa.
9. Ornitina descarboxilasa.

INHIBICION DE POLIAMINAS ALIFATICAS

Durante los últimos años ha aumentado el interés por el desarrollo de inhibidores de la síntesis de poliaminas. (17). La razón de esto es el hecho de que las poliaminas se sintetizan rápidamente durante la proliferación celular y pueden por lo tanto, estar íntimamente relacionadas con este proceso. (9,39).

Muchos procesos bioquímicos tales como transporte de nutrientes al interior de la célula, la velocidad de síntesis de diversas macromoléculas, así como el control de su degradación son influenciados por agentes capaces de inducir crecimiento. (69).

En cambios tempranos asociados con la transición de células de un estado quiescente a un estado de proliferación, hay un aumento en la actividad de las enzimas involucradas en la biosíntesis de poliaminas. Como resultado de esta actividad enzimática intensa hay acumulación intracelular de poliaminas.

Aún cuando la velocidad de síntesis de estos compuestos siempre parece estar acoplada a un aumento de la proliferación celular, se están realizando varios estudios para demostrar si éste incremento es circunstancial o esencial para que las células entren en actividad mitótica.

Para esto se ha tratado de provocar deficiencia en la concentración de poliaminas utilizando inhibidores más o menos específicos de las enzimas que biosintetizan poliaminas, así como de moduladores de la actividad de ODC análogos a la putrescina. (23,46).

En las células de los mamíferos, la biosíntesis de poliamina involucra la acción secuencial de dos descarboxilasas y dos transferasas. Muchos de los inhibidores de la biosíntesis de poliaminas que se han desarrollado para bloquear la acumulación de poliaminas in vivo son dirigidos hacia las descarboxilasas. (17). (Tabla 2). (75).

El desarrollo preferencial de inhibidores de descarboxilasas puede explicarse debido a que la velocidad de descarboxilación de la ornitina es el limitante en la regulación de los pasos biosintéticos de las poliaminas. Aunque en algunos

casos, la síntesis de ornitina pudiese ser el factor limitante. (28,29,42).

Para el diseño de inhibidores se deben tomar en cuenta cuales son los pasos limitantes de la vía metabólica, cual es la vida media de las enzimas que intervienen en esos pasos, cuales son los cofactores y activadores en esos pasos, cuales son los cofactores y activadores de esas enzimas y en cuanto tiempo se catabolizan tanto las enzimas como los productos.(45).

La mayor parte de la investigación hecha hasta el presente se ha enfocado a la búsqueda de inhibidores de la ODC y la SAMD.

Los inhibidores usados caen dentro de las siguientes categorías :

1. Análogos estructurales de ornitina y putrescina que pueden actuar como inhibidores competitivos de la ODC.
2. Compuestos que compiten con los cofactores de estas enzimas.
3. Diaminas que actúan como represoras de la síntesis de ODC.
4. Inhibidores de SAMD.

Algunos inhibidores parecen unirse reversiblemente a las enzimas, pero otros como la D - L - α -difluorometil ornitina (DFMO), se unen irreversiblemente y son los más efectivos. (25).

Tal inhibición no es fácil de estudiar debido a la vida media tan corta de la ODC (10 - 20 min.), que permite el cambio rápido de su actividad en respuesta a un estímulo. Una consecuencia de la vida corta de esta enzima es que la estabilización de la proteína puede traer consigo un incremento en la concentración total de la enzima presente. (23,35).

Tal estabilización ocurre con inhibidores competitivos como α - metilornitina y puede formar parte importante en la superación de los efectos de los inhibidores. (42).

La DFMO es uno de los inhibidores de ornitina descarboxilasa más eficiente y su mecanismo de reacción es conocido. (25). Es un inhibidor selectivo e irreversible, capaz de agotar las concentraciones celulares de poliaminas in vivo. De

aquí su uso para estudiar los papeles biológicos de las poliaminas.

Otro inhibidor de ODC es la 1,4 - diaminobutanona, la cual es un análogo de la putrescina, es un inhibidor competitivo reversible. Una desventaja de la 1,4-diaminobutanona es su inestabilidad en solución.(29).

TABLA 2

INHIBIDORES DE LA BIOSINTESIS DE POLIAMINAS

ENZIMA	INHIBIDOR	MECANISMOS DE ACCION
Ornitina Descarboxilasa (ODC)	<u>Análogos del sustrato:</u>	
	A. DL- α -hidrazinoornitina.	Reversible y competitiva.
	B. DL- α -metilornitina	Reversible y competitiva.
	C. DL- α -hidrazino-metilornitina.	Reversible y competitiva.
	D. DL- α -difluorometilornitina.	Irreversible.
	<u>Análogos del producto :</u>	
	E. Trans-1,4-diamino-2 buteno.	Reversible y competitiva.
	F. 1,4-diaminobutanona.	Reversible y competitiva.
	G. 5-hexino-1,4-diamina.	Irreversible.
	H. Homólogos de diaminas con 3-12 átomos de carbono.	Indirecto. Ej : por induccion de la proteína que inhibe a la ODC (ODC-antizima).
	I. 1,3-diamino-2-propa--nol.	Indirecto.

Continuación :

TABLA 2

INHIBIDORES DE LA BIOSINTESIS DE POLIAMINAS

ENZIMA	INHIBIDOR	MECANISMOS DE ACCION
S-adenosilmetionina descarboxilasa (SAMd).	A. Metilglicoxal-bis (guanilhidrazona) (MGBG).	Reversible y competitiva con respecto al sustrato.
	B. 1,1'-(metiletano dilideno) dinitri lo) bis-(3-amino- guanidina) (MBAG).	Reversible inicialmente y - competitivo con respecto al sustrato. Luego irreversible.
	C. S-adenosil -DL-2- metiltionina.	Reversible y competitivo con respecto al sustrato.
Espermidina Sintetasa.	A. δ, ω -diaminas con 3 a 12 átomos de carbono. El 1,5- diaminopentano es el más activo.	Reversible y competitivo con respecto a uno de los sustratos (putrescina).
Espermina Sintetasa.	A. δ, ω -diaminas con 3 a 12 átomos de carbono. El 1,5 - diaminopentano es el más activo.	Reversible y competitivo con respecto a uno de los sustratos (espermidina).

INTERACCION DE POLIAMINAS ALIFATICAS CON OTRAS MOLECULAS

Se ha demostrado en muchos sistemas celulares que las poliaminas se requieren para el crecimiento óptimo, en la mayoría de las células éste requerimiento es absoluto. (Tabla 3).

Una explicación para el efecto de las poliaminas como promotoras del crecimiento es que éstas se requieren para la división de la célula. La proliferación celular incluye dos procesos principales : crecimiento celular y división.

El proceso de crecimiento sirve para duplicar todos los elementos estructurales y la capacidad funcional de la célula. El evento clave para el crecimiento celular es la duplicación del DNA, ya que es un prerrequisito genético absoluto para la división celular.

Los procesos de duplicación de DNA y la mitosis están bien identificados y permiten dividir el ciclo celular en 4 fases sucesivas que son : A_1 , D, A_2 , M.

A_1 es el período entre la mitosis (M) y la síntesis de DNA (D) y A_2 es el período entre D y M. La fase intermitótica (A_1 , D, y A_2) se caracteriza por crecimiento celular continuo.

En la fase A_1 del ciclo celular están contenidos numerosos eventos, algunos de los cuales son esenciales para el inicio de la duplicación del DNA.

La síntesis de poliaminas se ve fuertemente activada durante el período de A_1 , ya que estas moléculas han sido implicadas en la preparación de la célula para la duplicación del DNA y uno de los primeros cambios que tienen lugar después de que las células entran en A_1 es un incremento en la actividad de la ODC. (32, 33).

Por otro lado, hay reportes que demuestran una acción antimicrobiana de las poliaminas; en general, la espermina es más activa en la inhibición del crecimiento (10^{-3} M), seguida de spermidina, mientras que la putrescina y la cadaverina no muestran estos efectos. (60). La actividad antibacteriana de las poliaminas puede deberse a su naturaleza catiónica y sería por consiguiente proporcional al número de los centros positivamente cargados en cada molécula.

La actividad antibacteriana de varias drogas es inhibida por las poliaminas,

TABLA 3

EFECTOS BIOLOGICOS DE LAS POLIAMINAS

-
1. POLIAMINAS COMO FACTORES DE CRECIMIENTO.
En micro-organismos.
En células de mamífero.
 2. ESTABILIZACION DE MEMBRANAS CELULARES.
 3. ESTABILIZACION DE PARTICULAS SUBCELULARES.
 4. ASOCIACION CON ACIDOS NUCLEICOS.
Estabilización del DNA contra la desnaturalización.
Asociación con t-RNA.
Estabilización de la forma superenrollada del DNA.
Empacamiento del DNA en bacteriófagos.
Estimulación de la síntesis de DNA.
Estimulación de la síntesis de RNA.
Modificación de la actividad de ribonucleasas.
Estabilización del RNA recién sintetizado.
 5. EFECTOS SOBRE LA SINTESIS DE PROTEINAS.
Fijación de moléculas de t-RNA a ribosomas.
Estimulación de metilación de t-RNA.
Reemplazamiento de Mg^{++} en la reacción de aminoacil t-RNA sintetasa.
Asociación con ribosomas.
Biogénesis de partículas ribosomales.
Fidelidad de la traducción.
Iniciación de la traducción.
Estimulación de la nucleotidiltransferasa de t-RNA.
 6. EFECTOS SOBRE VARIAS REACCIONES METABOLICAS.
Estimulación de nucleótido cinasas.
Modificación de las actividades de proteínas cinasas.
Incrementan la ADP-ribosilación de proteínas nucleares.
Activación de fosforilasa b.
Estimulación de lipólisis.
Activación de colina cinasa.
Incremento en la utilización de fructosa en espermatozoides.
Inhibición de ATPasa.
Modificación de la actividad de acetil'colina esterasa.
Inhibición de la agregación de plaquetas.
-

lo que sugiere un sitio de unión común, tales efectos antagónicos han sido reportados con estreptomycin, actinomicina D y otras drogas básicas, aunque no se conoce con precisión si hay una relación estequiométrica. (33).

INTERACCION CON EL DNA

Los avances más importantes en el área de las poliaminas en los últimos años han sido proporcionados por los estudios concernientes a la interacción de las poliaminas con los ácidos nucleicos. Esta asociación fue descrita por vez primera al encontrarse que la putrescina y la espermidina estaban unidas al DNA de algunos fagos, las poliaminas en estos fagos no se intercambian con las poliaminas del medio y se inyectan junto con el DNA en la célula huésped.

Se ha observado que si las poliaminas están suficientemente concentradas, producen precipitados que son insolubles en etanol al 66%, pero que pueden disociarse incrementando la fuerza iónica o el pH del medio. (62).

La interacción de las poliaminas con los ácidos nucleicos se lleva a cabo por un enlace iónico entre los grupos amino de las poliaminas y los grupos fosfato de los ácidos nucleicos, dando como resultado la neutralización de cargas y la estabilidad de estructuras secundarias del DNA.

De esta manera se puede comprender el hecho de que las poliaminas protegen a los ácidos nucleicos contra la desnaturalización térmica y la degradación enzimática. (37).

La acción de las poliaminas es más pronunciada cuando el DNA se calienta en un medio de fuerza iónica relativamente baja, ya que otros cationes pueden competir con las poliaminas y ejercer un efecto estabilizador.

Hay evidencias de que se requiere un tamaño específico de la molécula de diamina que da una protección óptima al DNA. Algunos análisis con rayos X han sugerido numerosas configuraciones posibles para el complejo formado entre las poliaminas y la doble cadena de DNA.

En una de las configuraciones, los grupos amino protonados forman puentes de hidrógeno con los oxígenos de los fosfatos en el surco menor de la molécula de

DNA.

Se pueden considerar otros grupos geométricos en los cuales todos los grupos básicos de las poliaminas forman puentes de hidrógeno con los grupos fosfato de una sola cadena del DNA.

Recientemente se han encontrado pruebas de un modelo molecular en el cual dos grupos de la espermina cargados positivamente, forman enlaces de hidrógeno con dos átomos de oxígeno adyacentes cargados negativamente en una cadena de DNA para cruzar el surco menor y formar dos enlaces de hidrógeno más con los grupos fosfato adyacentes de la otra cadena.

Parece ser que todas estas configuraciones son adoptadas al azar in vivo y de este modo las poliaminas pueden unirse como las histonas, a lo largo de secciones de la molécula de DNA.

Las poliaminas también regulan la síntesis de DNA por la DNA polimerasa DNA dependiente, (70) estimulan la transcripción de RNA y por lo tanto, favorecen la síntesis de proteínas. (5,55).

INTERACCION CON EL RNA

Las poliaminas interactúan también con los ácidos ribonucleicos protegiéndolos contra la desnaturalización térmica.

Se han encontrado evidencias del papel de las poliaminas en la regulación del metabolismo del RNA en bacterias, así como en tejidos vegetales y animales.

Se sabe que tanto en bacterias como en los tejidos animales, hay una estrecha relación entre la síntesis de RNA y los niveles de espermidina, (50), esto sugiere que las poliaminas pueden regular la síntesis de RNA y así, indirectamente favorecer el crecimiento. (77).

Las poliaminas a bajas concentraciones estimulan a la RNA polimerasa DNA dependiente, pero a altas concentraciones pueden inhibirla.

Las poliaminas pueden también tener un efecto cualitativo en la síntesis de RNA, es decir, pueden causar una transcripción selectiva de regiones específicas del DNA.

En las bacterias las poliaminas se encuentran asociadas principalmente con el t-RNA.

El significado fisiológico preciso de la interacción de las poliaminas con el t-RNA es desconocido todavía, pero algunos estudios sugieren que la espermidina interacciona con las cadenas de t-RNA estabilizando a la molécula, además de protegerla contra las nucleasas.

Las poliaminas también contribuyen a la cristalización del t-RNA reemplazando al magnesio ó a otros cationes divalentes requeridos para este proceso.

Por otra parte, las configuraciones inactivas del t-RNA pueden ser convertidas in vitro, en formas activas por la adición de poliaminas, las cuales, probablemente refuerzan las regiones de doble hélice.

Se ha demostrado la presencia de 2 moléculas de espermidina en el t-RNA y es to puede relacionarse con la funcionalidad de las diferentes moléculas de t-RNA.

Todos los efectos que se han mencionado sobre el t-RNA dan una posible explicación para la regulación de la síntesis de proteínas por medio de las poliaminas, aunque se han propuesto otras hipótesis. Entre éstas, hay una que sostiene que las poliaminas regulan la transcripción del DNA y así, controlan la formación del RNA mensajero.

Otra hipótesis afirma que las poliaminas interactúan más bien con los ribosomas bacterianos causando la asociación de las 2 subunidades ribosomales, facilitando la unión de las moléculas de m-RNA o r-RNA. (53).

Un entendimiento de la naturaleza de la interacción entre las poliaminas y el RNA pueden ayudar a elucidar las importantes funciones bioquímicas de estos compuestos.

Las poliaminas afectan muchos procesos biológicos tales como la estimulación de síntesis de DNA, RNA y síntesis de proteína. Los nucleótidos están involucrados en muchas reacciones enzimáticas. Es conocido que existen fuertes interacciones entre Mg y los nucleótidos, ya que el nucleósido trifosfato intracelular existe principalmente como complejo con Mg, estos complejos se cree que son los verd

deros sustratos para enzimas que requieren de esos nucleótidos. (50,63).

Tanto la putrescina como la espermidina y espermina interactúan con los nucleótidos de la misma manera que lo hace el Mg. Resultados recientes indican que las interacciones poliamina-nucleótido existen y que son lo suficientemente fuertes para afectar las interacciones Mg-nucleótido.

La relación de Mg con un nucleótido es estrictamente uno a uno y el complejo formado es probablemente inflexible porque el Mg tiene valencia fija de coordinación. En contraste, las interacciones entre poliamina-nucleótido son variables y múltiples debido a la estructura flexible molecular de las poliaminas.

A pH de 6.1, la estequiometría del complejo formado entre putrescina, espermidina o espermina y AMP, ADP o ATP es uno a uno. A pH de 7.5, una molécula de putrescina se une a una molécula de nucleótido, a diferencia de que dos moléculas de espermidina o espermina pueden acomplejarse con una molécula de nucleótido. El incremento de la carga negativa sobre el nucleótido se obtuvo por aumento del pH causando que la espermina y espermidina pero no la putrescina se unan de manera múltiple al nucleótido.

El pH no sólo influye en la estequiometría de las interacciones poliamina-nucleótido sino también en la afinidad de los nucleótidos por las poliaminas.

Por lo tanto la multiplicidad de las interacciones dependen del pH y tipo de poliamina, lo que indica que el complejo formado entre poliamina y nucleótido es afectado no solamente por las interacciones de las cargas sino también por las características estructurales de las moléculas de poliamina.

La parte fosfato del nucleótido es la parte determinante para la afinidad de la poliamina.

A pH de 7.5 la constante para espermina-AMP (1:1) ($K_1=360 \text{ M}^{-1}$) es doble, tan alta como para Mg-AMP, las constantes para espermina-ADP (1:1) ($K_1=1250 \text{ M}^{-1}$) y Mg-ADP son muy parecidas, y la constante para espermina-ATP (1:1) ($K_1=9500 \text{ M}^{-1}$) es n proximadamente un 40% más baja que la de Mg-ATP.

Es posible que la espermina y otras poliaminas compitan con el Mg por los nucleótidos in vivo y consecuentemente puedan tener un papel regulador en las reacciones enzimáticas. (16).

Si el Mg permanece aún en el complejo poliamina-nucleótido, se producirían especies de nucleótido, las cuales exhibirían diferencias fisicoquímicas así como también propiedades bioquímicas diferentes.

Existe mayor diversidad en las interacciones poliamina-nucleótido que en las de Mg-nucleótido. Las poliaminas tienen profundos efectos en las reacciones de la nucleodifosfato kinasa en presencia de altas concentraciones de Mg, y estos efectos son selectivos con respecto al tipo de poliamina. (52).

INTERACCION CON LOS RIBOSOMAS

Las poliaminas pueden también unirse a los ribosomas, de acuerdo a algunos autores las poliaminas pueden neutralizar cuando menos 1/3 de los grupos ácidos del RNA ribosomal. (53).

La estabilización de los ribosomas por las poliaminas puede deberse al enlace directo con los residuos de fosfato de RNA, o alternativamente, al enlace de los ribosomas libres con las membranas celulares. Se sabe que la espermina está involucrada en la unión de los ribosomas libres a la membrana del retículo endoplásmico (0.3 a 0.5 mM, concentraciones similares a las fisiológicas) y que los ribosomas unidos son más resistentes a las ribonucleasas que los ribosomas libres.

Estudios muy cuidadosos indican que los ribosomas no actúan como materiales de intercambio catiónico no específicos y que el Mg no puede ser reemplazado por las poliaminas sin afectar las propiedades biológicas de los ribosomas.

Así el reemplazamiento de más del 70% del Mg unido , causa una pérdida rápida de la actividad de polimerización de fenilalanina en ribosomas. (61).

Parece ser que se requiere un nivel crítico de magnesio para mantener las funciones biológicas de los ribosomas.

POLIMERIZACION DE ACTINA

La actina del músculo se polimeriza reversiblemente con la adición de bajas concentraciones de poliaminas. Esta polimerización presenta una relación lineal entre la inducción de la polimerización de actina y la longitud de la cadena de la poliamina, en donde la espermina y espermidina son las más eficientes, eficiencia que aumenta con la longitud de la cadena. (30,60,48).

La polimerización de actina también puede ser inducida por derivados de mono o diguanidina de estas poliaminas pero no por monoaminas o aminoácidos ya que son inactivos, esto es debido a que cuando un grupo carboxilo está presente la polimerización no se lleva a cabo. (60,76).

El hecho de que los derivados de guanidina y poliaminas sean capaces de promover la polimerización de actina sugiere que estas moléculas se comportan como policationes específicos.

La inducción de polimerización de F - actina tanto por poliaminas como por sales exhiben las mismas propiedades, tal es el caso de las viscosidades específicas en donde si la inducción es mediante poliaminas a una concentración de 0.12 y 0.43 mg/ml se obtienen viscosidades de 0.12 y 0.56 respectivamente. Cuando la inducción es con sal las viscosidades son de 0.15 y 0.53 a las mismas concentraciones.

La inducción de polimerización de actina por poliaminas y derivados de guanidina no es debido a un simple efecto de fuerza iónica ya que estos compuestos son eficientes a muy bajas concentraciones. (de 0.2 - 0.5 mM).

Por ejemplo, en un amortiguador con un pH de 7.5 la G-actina se polimeriza con la adición de bajas concentraciones de diaminas o poliaminas, tal es el caso de la putrescina que a concentraciones de 0.5 mM induce la polimerización hasta en un 50%, mientras que con la espermina y espermidina a la misma concentración, el % de polimerización alcanza el 100%. (30). (Tabla 4).

El porcentaje de polimerización está en función del tiempo de reacción. En presencia de aminoácidos y compuestos monobásicos el % de polimerización es muy bajo o no ocurre. A continuación se muestran los porcentajes de polimerización ob

tenidos con varias diaminas, poliaminas y derivados de guanidina con un pH de 7.5 y una concentración de 0.5 mM.

Tabla 4 % DE POLIMERIZACION DE DIFERENTES POLIAMINAS. (30).

DIAMINAS O POLIAMINAS	DERIVADOS DE GUANIDINA	FORMULA	% DE POLIMERIZA CION.
Etilendiamina		$H_2N-CH_2-CH_2-NH_2$	5
1,3 Diaminopropano		$H_2N-(CH_2)_3-NH_2$	33
Putrescina		$H_2N-(CH_2)_4-NH_2$	47
Cadaverina		$H_2N-(CH_2)_5-NH_2$	52
1,6 Diaminohexano		$H_2N-(CH_2)_6-NH_2$	58
	Agmatina	$\begin{array}{c} H_2N \\ \diagup \\ C-NH-(CH_2)_4-NH_2 \\ \diagdown \\ H \ N \end{array}$	57
	Arcaína	$\begin{array}{c} H_2N \\ \diagup \\ C-NH-(CH_2)_4-NH-C \begin{array}{l} NH_2 \\ // \\ NH \end{array} \\ \diagdown \\ H \ N \end{array}$	80
Espermidina		$H_2N-(CH_2)_4-NH-(CH_2)_3-NH_2$	89
	1,5-diamidinocadaverina	$\begin{array}{c} H_2N \\ \diagup \\ C-NH-(CH_2)_5-NH-C \begin{array}{l} NH_2 \\ // \\ NH \end{array} \\ \diagdown \\ H \ N \end{array}$	78
Espermina		$H_2N-(CH_2)_3-NH-(CH_2)_4-NH-(CH_2)_3-NH_2$	93
	1,7-diamidinoespermina.	$\begin{array}{c} H_2N \\ \diagup \\ C-NH-(CH_2)_4-NH-(CH_2)_3-NH-C \begin{array}{l} NH_2 \\ // \\ NH \end{array} \\ \diagdown \\ H \ N \end{array}$	98

SUPERPOLIAMINAS

Las poliaminas macrocíclicas son moléculas complejas. La mayor parte de ellas se encuentran en forma cíclica.

A diferencia de las naturales, estas moléculas tienen además de nitrógeno e hidrógeno en forma de aminas, oxígeno en forma de epóxidos, grupos carboxilo, etc.

Estas poliaminas sintéticas presentan características importantes para los procesos celulares; en donde una de las más estudiadas es la inducción de polimerización de actina. (49).

Es decir producen efectos similares o mejores que las poliaminas naturales.

Las poliaminas macrocíclicas son receptores aniónicos, las cuales interactúan con una variedad de moléculas aniónicas orgánicas e inorgánicas; formando complejos muy estables. (52).

Interaccionan principalmente con los nucleótidos, en donde muestran su alta actividad para el mejoramiento de los procesos fisiológicos.

INTERACCION DE POLIAMINAS MACROCICLICAS CON MACROMOLECULAS

POLIAMINAS MACROCICLICAS COMO RECEPTORES ESPECIFICOS

Las penta y hexaminas macromonocíclicas interactúan específicamente a pH neutro con policarboxilatos que tienen los dos carboxilos a cortas distancias tales como succinato, malato, citrato, malonato y maleato; sin embargo son inertes a otros dicarboxilatos como fumarato, aspartato o glutarato y monocarboxilatos como acetato o lactato. Se ha demostrado la asociación 1:1 entre la poliamina macrocíclica en la forma triprotonada y el policarboxilato en forma dianiónica a pH neutro formando así el par iónico. (24).

La formación del par iónico depende de las características estructurales tanto de poliaminas como carboxilatos e indica una interacción estérica controlada.

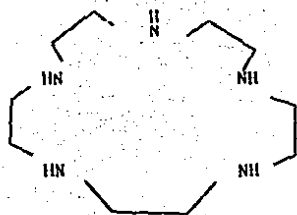
Ciertos aniones de carboxilato usados como amortiguadores o electrolitos influyen en la migración y secuencia de algunas poliaminas. En solución de monocarboxilato como acetato y lactato (pH de 6), todas las poliaminas probadas se desplazan normalmente como cationes protonados hacia el cátodo con rangos más o menos similares. Por otro lado, en un amortiguador de citrato al mismo pH, algunas de las poliaminas muestran movimientos lentos no usuales. (4).

Los macrociclos de tamaño pequeño no son afectados.

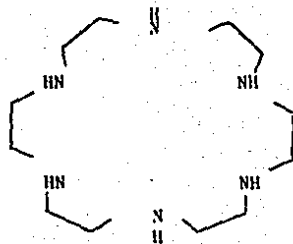
Los dicarboxilatos pueden solamente ser clasificados en dos grupos. En el primer grupo la migración de los macrociclos tiende a ser detenidos. Los aniones en este grupo son citrato, succinato, malato, tartrato, maleato y O-ftalato, los cuales pueden interaccionar con las poliaminas macrocíclicas L^8 - L^9 y L^{10} (poliamina lineal). (Figura 6).

En el segundo grupo los macrociclos no son marcadamente detenidos como en el primer grupo. Algunos ejemplos de aniones son fumarato y m-ftalato, los cuales no pueden tener interacción especial con macrociclos. El m-ftalato parece interaccionar con poliaminas como anión monovalente. Una situación paralela se ve con maleato y fumarato.

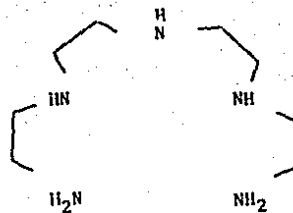
De acuerdo a lo anterior se puede decir que el factor geométrico es importante para la efectividad de la formación del par iónico.



L6



L9



L10

FIGURA 6 ESTRUCTURAS DE SUPERPOLIAMINAS

POLIAMINONES BIOLÓGICOS

La interacción de moléculas macrocíclicas tetra, penta y hexaminas con importantes polianiones biológicos como fosfato, AMP, ADP, ATP en solución de pH neutro han sido estudiadas usando métodos polarográficos y mediciones de NMR. De aquí se establecieron que las poliaminas macrocíclicas pueden acomodar más de 2 protones en la cavidad central y que forman complejos 1:1 con policarboxilatos. (8,24).

También se establecieron pares iónicos 1:1 entre las formas policatiónicas de las poliaminas macrocíclicas y las polianiónicas de los fosfatos. (11).

La coordinación de anión normalmente requiere de cargas altamente positivas en las poliaminas, lo cual se comprobó con las moléculas L¹ - L⁹, las cuales son capaces de incorporar más de 3 protones a pH neutro. (Figura 7).

Es bien conocido, que hay cationes de poliamonio, como espermidina y espermina, o iones metálicos divalentes como magnesio y calcio, los cuales son necesarios para numerosas funciones biofísicas y bioquímicas, incluyendo la estabilización de estructuras de ácido nucleico, replicación de DNA y síntesis de proteínas. (6,60).

Varias de las moléculas de ATP intracelular están unidos a iones metálicos divalentes como magnesio y el complejo resultante metal-ATP actúa como sustrato real o cofactor en numerosas reacciones enzimáticas, tales como transferencia de fosfato e hidrólisis del mismo. En vivo los niveles del complejo metal-ATP pueden ser regulados por poliaminas naturales por su asociación con el ATP. (60,58).

La L⁵ y otras poliaminas macrocíclicas perturban las funciones regulares bioquímicas y biológicas de las poliaminas naturales, como las poliaminas L⁵ y L⁹ que presentan mayores afinidades para AMP, ADP y ATP que las naturales, así como para magnesio y calcio. (24,11).

Algunas poliaminas macrocíclicas exhiben selectividad hacia los nucleótidos de una manera diferente que las naturales. La molécula L⁹ es altamente selectiva hacia ADP y ATP y la L⁵ hacia ATP.

La interacción de L⁶ - L⁹ con el complejo metal-ATP podría influir en varias

reacciones enzimáticas que incluyen ATP . (24).

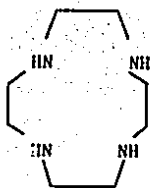
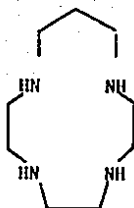
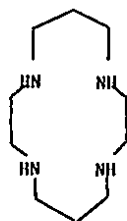
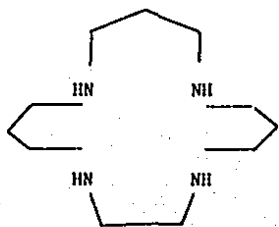
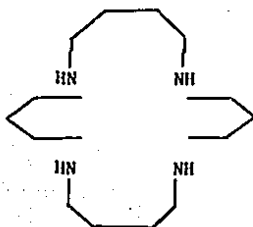
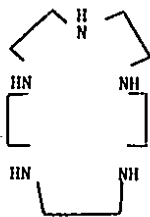
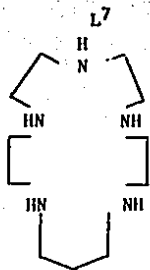
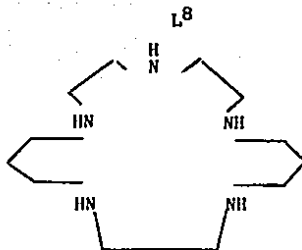
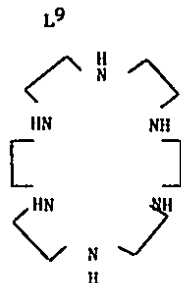
L¹L²L³L⁴L⁵L⁶L⁷L⁸L⁹

FIGURA 7 ESTRUCTURAS DE POLIAMINAS MACROCICLICAS

HIDROLISIS DE ATP

La formación e hidrólisis de 5' adenosin trifosfato (ATP) ocurre vía reacciones enzimáticas altamente eficientes, catalizadas por las ATPasas, de aquí que jueguen un papel muy importante en numerosos procesos biológicos como : fosforilación oxidativa, acción muscular, transporte activo, etc. (22,50).

En el mecanismo de hidrólisis de ATP se ha encontrado que los iones metálicos como el Co (III) promueven la hidrólisis no enzimática. Las poliaminas macrocíclicas protonadas han demostrado que se unen fuertemente al AMP, ADP y ATP, con afinidades comparables como las que se han encontrado en complejos enzima-sustrato. (6,50,60).

Se han probado varias moléculas de poliaminas macrocíclicas y se ha observado que estas moléculas poliprotonadas actúan como receptores de aniones, (8) desarrollando un marcado efecto en la habilidad de unión. Las poliaminas L^1 - L^9 tienen diferentes constantes de protonación. (Figura 7). La naturaleza, estructura y estabilidad de sus complejos dependen de su estado protonado dado por el pH. (40).

Hay una dependencia fuerte en la naturaleza del aditivo, la cual se puede deber a factores estructurales y estado de protonación. A pH de 8 el compuesto L^1 produce una aceleración del orden de 10^3 así como una hidrólisis acelerada de ATP.

La hidrólisis de ATP se ve afectada por el pH, en donde ésta aumenta a pH ácidos, aproximadamente de 3. (Figura 8).

Durante el curso de la reacción se observa la formación de especies de transición como intermediarios de fosforamidato. La cinética de la reacción indica que la hidrólisis de ATP en presencia de un equivalente de poliamina macrocíclica es de primer orden para todos los compuestos y valores de pH estudiados y además es catalítica. (8). La alta asociación de las constantes entre ATP y las poliaminas protonadas sugieren que las especies dominantes en solución son complejos. (47).

Las poliaminas con grupos reactivos como aminas, ácidos carboxílicos e imidazoles, pueden afectar la eficiencia en la hidrólisis de ATP.

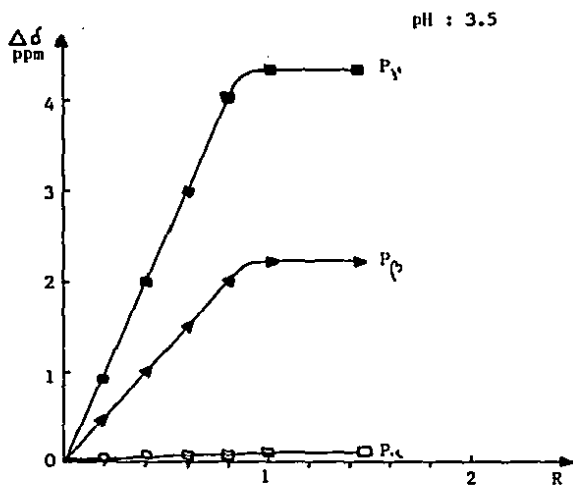


FIGURA 8 DIFERENTES SEÑALES DE α , β Y γ FOSFATO DE ATP ACOMPLEJADOS CON LA POLIAMINA 7 (ver polimerización de actina).

R = poliamina macrocíclica/ATP

$\Delta\delta$ = concentración de P_α , P_β , P_γ .

POLIMERIZACION DE ACTINA

Las poliaminas macrocíclicas y macropolicíclicas son receptores aniónicos los cuales son capaces de formar complejos fuertes y selectivos, (8) con una variedad de aniones orgánicos e inorgánicos.

Por su actividad biológica tales moléculas pueden ser consideradas como análogos de las poliaminas naturales. (30). En estado protonado interactúan con compuestos biológicos formando numerosas uniones con los sitios aniónicos de sustratos polifuncionales, tal es el caso de la actina, la cual resulta ser una proteína apropiada para tal unión múltiple con las poliaminas macrocíclicas. (36,38).

Se ha demostrado que las poliaminas naturales unidas a actina inducen su polimerización con una eficiencia que aumenta con el número y separación de los sitios catiónicos. (30,41).

Las poliaminas macrocíclicas pueden ser capaces de producir efectos similares con una mayor eficiencia que las poliaminas naturales, comportándose como : " SUPERPOLIAMINAS ".

En experimentos realizados se encontraron que tanto las moléculas acíclicas como las macrocíclicas inducen tres pasos en la polimerización de actina :

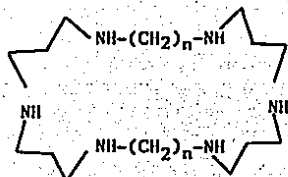
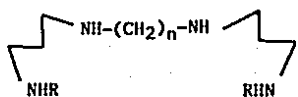
1. La nucleación de actina monomérica (G - actina).
2. Polimerización reversible de la actina monomérica en filamentos con una estructura similar a la de una sal terciaria.
3. Asociación lateral de filamentos de actina para formar estructuras abultadas.

Hay dos propiedades biológicas que poseen las poliaminas macrocíclicas que son :

A. Activación del Mg-ATPasa de la miosina para formar la poliamina F-actina.(60, 38).

B. El ATP forma complejos muy estables con las poliaminas macrocíclicas.

Las características que presentan este tipo de poliaminas son de gran importancia en los procesos celulares tales como movilidad y crecimiento. Las poliaminas que presentan estas características se muestran a continuación :



Espermina R= H n=4

Para las Superpoliaminas:

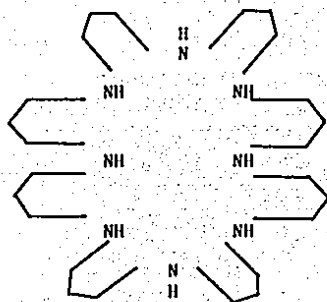
1 R= H n=10

3 n=10

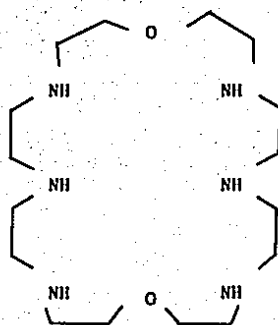
4 n=7

2 R= $-(CH_2)_3-NH_2$ n=10

5 n=3



6



7

RECEPTOR DE CARBONATO

Descubrimientos recientes muestran que las pentaminas y hexaminas macrocíclicas forman complejos 1:1 muy estables a pH neutro con policarboxilatos (citrato, succinato) y fosfatos (fosfatos inorgánicos, AMP, ADP, ATP). (20).

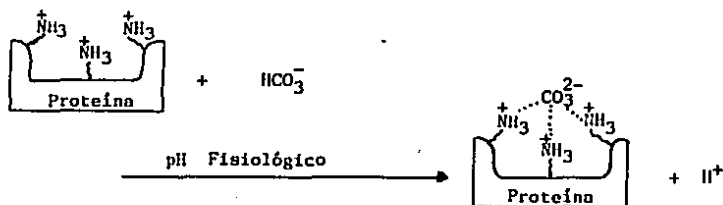
La interacción de aniones de carbonato con los macrocíclicos y las poliaminas lineales se llevaron a cabo en electroforesis de papel, en donde en ausencia de iones de carbonato, las poliaminas se mueven hacia el electrodo negativo como poliaminas normales a pH 7 (Figura 9); con un amortiguador de carbonato (pH 9.3) las poliaminas se mueven en sentido inverso, hacia el electrodo positivo. (Figura 9).

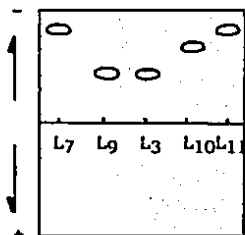
Esto demuestra la formación de complejos entre poliaminas y policarboxilatos. (47).

El descubrimiento más significativo en este estudio es la liberación de un protón libre cuando hay interacción de las poliaminas con los carbonatos a un pH de 7.

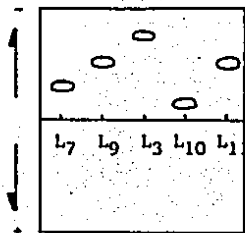
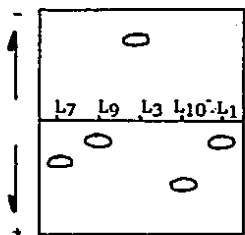
Fisiológicamente el equilibrio ácido-base con ácido carbónico formado a partir de CO_2 mediante la anhidrasa carbónica, es responsable para la producción de HCL gástrico en las células parietales, secretando por un lado H^+ y por otro bases cloradas en las células rojas de la sangre.

De acuerdo a lo anterior se puede decir que porciones de CO_2 en la sangre pueden ser transportadas en forma de carbonatos unidos en los sitios positivos de proteínas de hemoglobina. (18).





(a) pH de 7.2

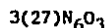
(b) pH de 7.2 con NaHCO_3 (0.1 M).

(c) pH de 9.2

FIGURA 9 MOVIMIENTO ELECTROFORETICO DE POLIAMINAS

MOLECULAS RECEPTORAS ANIONICAS

Se han sintetizado tres compuestos del tipo macrociclos de poliazas :



Los tres compuestos presentan protonación total : 1 - $6H^+$, 2 - $8H^+$, 3 - $6H^+$ forman fuertes complejos con polianiones tanto inorgánicos como orgánicos en solución acuosa. La unión ocurre en un rango de pH neutro. El pKa está alrededor de 7. (Figura 10). (7,8,43).

Los polianiones de nucleótido de fosfato como AMP^{-2} , ADP^{-3} , ATP^{-4} forman complejos de una mayor estabilidad en presencia de estructuras macrocíclicas que con estructuras acíclicas como espermina. La figura 11 presenta los efectos macrocíclicos sobre la unión aniónica con respecto a los ligandos acíclicos.

Estudios realizados en P-NMR reportan que el compuesto 1 forma un complejo 1:1 con ATP, y 1:1 y 1:2 para ADP. Las interacciones electrostáticas tienen una función importante tanto en fuerza como en selectividad de la unión aniónica. Para un receptor dado, los aniones más fuertemente complejados son generalmente los más pequeños y los de mayor carga, por ejemplo :



En la figura 11 se muestran los efectos estructurales. El dianión más largo como esquarato, fumarato y especialmente succinato, forman complejos estables con macrociclos de tamaño largo como 2 - $8H^+$. (8).

En términos de complementaridad estructural entre el sustrato aniónico y el receptor macrocíclico, el 1 - $6H^+$ y el 3 - $6H^+$ corresponden a sustratos de triple simetría, y el 2 - $8H^+$ a sustratos de simetría cuádruple.

La unión de aniones como : $Fe(CN)_6^{-4}$, $Co(CN)_6^{-3}$ u otro complejo aniónico de metal de transición producen especies que pueden ser consideradas como "complejos de complejos". Tal complejo puede permitir la regulación de propiedades físicas del sustrato.

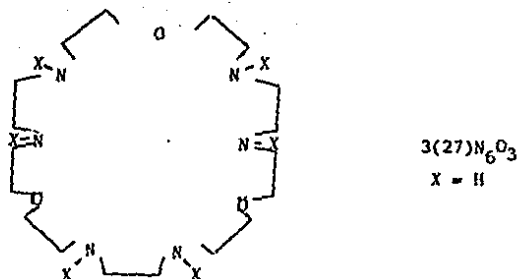
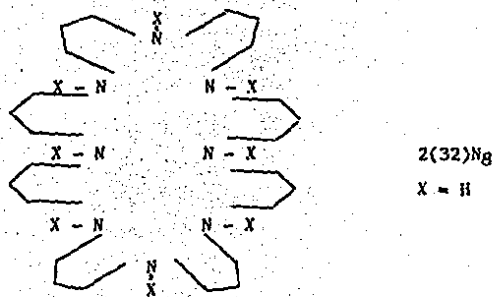
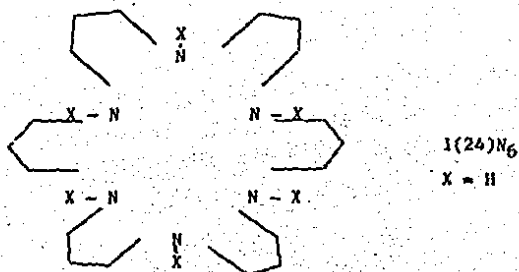


FIGURA 10 ESTRUCTURA DE DIFERENTES MOLECULAS RECEPTORAS ANIONICAS

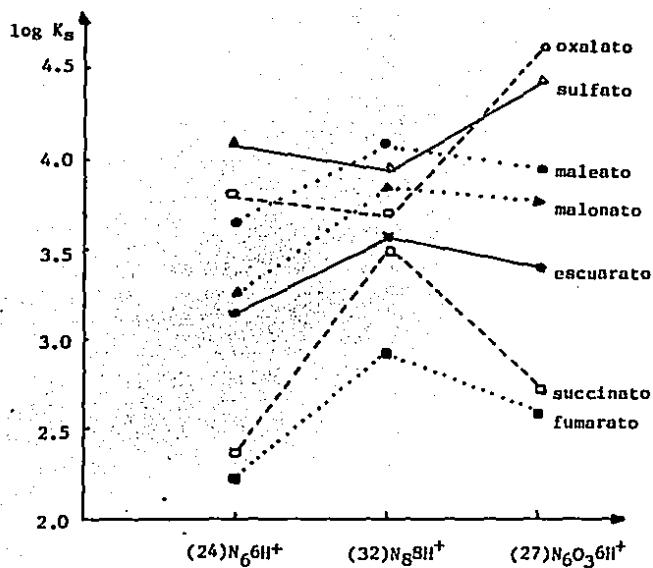


FIGURA 11 EFECTOS ESTRUCTURALES

Representación gráfica de las constantes de estabilidad ($\log K_s$) de los complejos formados por poliaminas macrocíclicas 1-6H⁺, 2-8H⁺ y 3-6H⁺ con varias moléculas aniónicas.

CONCLUSIONES

En este trabajo se analizaron las propiedades más importantes sobre poliaminas alifáticas y Superpoliaminas. La literatura consultada mostró la gran importancia fisiológica y bioquímica que tienen en diversas áreas como :

1. La concentración de poliaminas y sus enzimas biosintéticas aumentan cuando se incrementan los rangos de crecimiento. Estos incrementos generalmente preceden o son simultáneos con los niveles de RNA, DNA y proteína.

2. La ornitina descarboxilasa tiene un papel importante en las células animales. El nivel de esta enzima cambia rápidamente con una variedad de estímulos.

3. Las poliaminas presentan una alta afinidad hacia los ácidos nucleicos y estabilizan su estructura secundaria. Se han encontrado asociadas con el DNA y tienen una variedad de efectos estimulatorios sobre la biosíntesis de RNA y DNA in vitro.

4. La inhibición de la biosíntesis de poliaminas tiene numerosas e importantes consecuencias que permiten a su vez, elucidar las funciones de las poliaminas en los sistemas vivientes.

5. Las poliaminas presentan grandes ventajas que permiten pensar en la posibilidad de mejorar los principales procesos biológicos si se utilizan las poliaminas y sobre todo las Superpoliaminas que han demostrado ser más eficientes.

BIBLIOGRAFIA

1. Bachrach, U. : Functions of Naturally Occurring Polyamines. Acad. Press, New York, 1973.
2. Mendez, J. D. y Hicks, J.J. : Metabolismo y Función de las Poliaminas en las células vegetales. Rev. Soc. Quim. Mex. 27 (4): 169-173, 1983.
3. Russel, D.H.: Clinical relevance of polyamines. Crc. Crit. Rev. Clin. Lab. Sci. 18 (3): 1983.
4. Kyba, P. Evan; Helgeson, C.: Madan, Khorshed; Gokel, W. George.: Host-Guest Complexation. J. Amer. Chem. Soc. 99 (8): 2564-2571, 1976.
5. Igarashi, Kazuei; Hikami, Kimiko; Sugawara, Kumiko and Hirose, Seiyu.: Effect of polyamines on polypeptide synthesis in rat liver cell-free system. Biochem. Biophys. Acta 299: 325-330, 1973.
6. Cohen, S.S: An Introduction to the polyamines. Prentice-Hall, Englewood Cliffs N.Y. 1971.
7. Dartiguenave, Michele and Dartiguenave, Yves.: Anion Cryptates ; Highly stable and selective macrotricyclic anion complexes. J. Amer. Chem. Soc. 98(20): 6403-6405, 1976.
8. Dietrich, B; Hosseini, M.W.: Lehn, J.M. and Sessions, R.B.: Anion receptor molecules. Synthesis and anion-binding properties of polyammonium macrocycles. J. Amer. Chem. Soc. 103: 1282-1283, 1981.
9. Fozard, J.R. and Koch-Weser, J.: Pharmacological consequences of inhibition of polyamine biosynthesis with D,L- α -difluoromethyl ornithine. Trends Pharmacol. Sci. 3(3): 107, 1982.
10. Morris, D.R.: Section introduction: Biosynthesis of polyamines. In : ADVANCES IN POLYAMINE Research. Vol. 1. Edited by R.A. Campbell, D.R. Morris, D. Bartos, G. Daves and F. Bartos. Raven Press, New York, 1978.
11. Ocasio, J. Ignacio and Sullivan, D. Paul.: Equilibria involving cation radical ion pairs. Amer. Chem. Soc. 101 (2): 295-298, 1979.
12. Brewer, E.N. and Rusch, H.D.: Control of DNA replication. Biochem. Biophys. 6 (25): 579-584, 1966.

13. Smith, T.A.: The Physiology of the polyamines and related compounds. Endeavour 31 (12): 22-28, 1972.
14. Hosseini, M.W. and Lehn, J.M. J. Am. Chem. Soc. 104, 3525-3527.
15. Campbell, A.R., Hunt-Retzalaff, Z; Russi, J.B.: Polyamines in health and disease. In: The physiology of polyamines. Bachrach, U. and Heimer, Y. (EDS.) Crc. Press, inc. Florida, 1987.
16. Tabor, W.C. y Tabor, H.: Polyamines. Ann. Rev. Biochem. 33: 749-790, 1984.
17. Stevens, L. y Stevens, E.: Inhibitors of the biosynthesis of putrescine, spermidine and spermine. In: Polyamines in biomedical research, Ed. By. J.M. Gausgas, New York: Willey. 167-183, 1980.
18. Ganem, B. : New chemistry of naturally occurring polyamines. Accounts of chemical research 15: 290-298, 1982.
19. Hopkins, D. and Manchester, K.L.: Polyamines: Molecules in search of a role? South African. J. Sci. 78: 25-29, 1982.
20. Kimura, E. and Sakonaka, A.: A carbonate receptor model by macromonocyclic polyamines and its physiological implications. J. Amer. Chem. Soc. 104 (18): 4984-4985, 1982.
21. Mitchell, J.L.A. and Mitchell, G.K.: Ornithine decarboxylase protein diversity and activity modulation in the HTC cells. Biochem. Biophys. Res. Commun. 105(3): 1189-1197, 1982.
22. Hosseini, N.W., Lehn, J.M. and Mertes, H.P.: Efficient molecular catalysis of ATP-hidrolisis by protonated macrocyclic polyamines. Chimica. Acta. 66(8): 2454-2466, 1984.
23. Fong, W.F., Heller, J.S. and Canellakis, E.S.: The appearance of an ornithine decarboxylase inhibitory protein upon addition of putrescine to cell cultures. Biochem. Biophys. Acta 428: 456-465, 1976.
24. Kimura, Eiichi; Sakonaka, Atsuko; Yatsunami, Takashi and Kodama, Nutsuo.: Macromonocyclic polyamines as specific receptors for tricarboxylate-cycle anions. J. Am. Chem. Soc. 103: 3041-3045, 1981.
25. Danzin, C; Jung, M.J., Claverie, N., Grove, J., Sjoerdsma, A. and Kochweser, J

- .: Effect of α -difluoromethylornithine, an enzyme-activated irreversible inhibitor of ornithine decarboxylase on testosterone induced regeneration of prostate and seminal vesicle in castrated rats. Biochem. 180:507,1979.
26. Jänne, J; Hölttä, E; Haaranen, P. and Elfving, K.: Polyamines and polyamine-metabolising enzyme activities in human semen. Clin. Chim. Acta. 48:393, 1973.
27. Thakur, A.N; Sheth, A.R. and Roa, S.S.: Polyamines in human semen: presence of S-adenosyl-L-methionine decarboxylase. Clin. Chim. Acta. 57:377, 1974.
28. Abdel-Nonem, M.M; Newton, N.E. and Weeks, C.E.: Inhibitors of polyamine biosynthesis. J.Med. Chem. 18:945.
29. Bey, P; Danzin, C; Van Dorsselaer, V; Mamont, P; Jung, M. and Taedif, C.: Analogues of ornithine as inhibitors of ornithine decarboxylase. J. Med. Chem. 21:50, 1978.
30. Audit, Oriol.: Polyamine - induced actin polymerization. J. Biochem. 87: 371-376, 1978.
31. Jänne, J. and Williams-Ashman, H.G.: Dissociation of putrescine activated decarboxylation of S-adenosyl-L-methionine from the enzymatic synthesis of spermidine and spermine by purified prostatic enzyme preparations. Biophys. Res. Commun 42:222, 1971.
32. Heby, O.: Role of polyamines in control cell proliferation and differentiation. Differentiation 19:1-20, 1981.
33. Heby, O. and Anderson, G.: Polyamine and the cell cycle. In: Polyamines in biomedical research. Edited by J. Gaugas. New York: Willey. 17-34, 1980.
34. Mendez, J.D; Espinoza, L.M; Arratia, C. and Hicks, J.J.: Unpublished Data, 1985.
35. Forzard, J.R; Part, M.L; Grove, J; Schechter, P.J. and Koch-Weser, J.: L-ornithine decarboxylase. Science 208: 505, 1980.
36. Hosseini, M.W. and Lehn, J.N.: Anion receptor molecules. J. Am. Chem. Soc. 104: 3525-3527, 1982.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

37. Labib, R.S. and Tomasi, T.B.: Enzymatic oxidation of polyamines relationship to immunosuppressive properties. Eur. J. Immunol. II , 266, 1981.
38. Lehn, J.M., Hosseini, M.W. and Oriol-Audit, Ch.: Superpolyamines. 151: 557-559, 1985.
39. Mondovi, B; Guerrieri, P; Costa, M.T. and Sabatini, S.: Amine oxidase inhibitors and biogenic amines metabolism, in advances in polyamine research. Vol. 3 Caldera, C.N; Zappia, V. and Bachrach, U. Eds. Raven Press, New York, 1981, 75.
40. Newkome, G.R; Pappalardo, S; Gupta, V.K. and Fronczek, F.R.: Synthesis and structural aspects of macrocyclic polyamines containing 2,2' bipyridinyl unit. Amer. Chem. Soc. 48(25): 4848-4851, 1983.
41. Lehn, J.M.: Supramolecular chemistry: Receptors, Catalysts and Carriers. J. Amer. Chem. Soc. 227(4689): 849-856, 1985.
42. Van Winkle, L.J. and Campione, A.L.: Effect of inhibitors of polyamine synthesis on activation of diapausing mouse fibroblasts in vitro. J. Reprod. Fert. 68: 437-444, 1983.
43. Kimura, E; Watanabe, A. and Kodama, M.: A catechol receptor model by macrocyclic polyamines. J. Amer. Chem. Soc. 105 (7): 2063-2065, 1983.
44. Kimura, E; Yatsunami, A. and Watanabe, A.: Further studies on superoxide dismutase activities of macrocyclic polyamine complexes of copper (II). 145: 37-41, 1983.
45. Bey, P.: In enzyme - activated irreversible inhibitors. J. Biochem. 27 - 42 , 1978.
46. Qi, D.F. et AL.: Polyamines inhibit phospholipid-sensitive and calmodulin-sensitive Ca^{+2} - dependent protein kinases. Biochem. J. 213(2): 281-288, 1983.
47. Kimura, E; Kodama, N. and Yatsunami, T.: Macromonocyclic polyamines as biological polyanion complexons. J. Amer. Chem. Soc. 104(11): 3180-3187, 1983.
48. Grant, N.J. and Oriol-Audit, Ch.: Supramolecular forms of actin induced by polyamines: an electron microscopic study. Europ. J. Cell. Biol. 30: 67-73, 1983.
49. Kimura, E.: Chemistry for the basis of biological activities of macrocyclic polyamines. 102(8): 701-715, 1982.
50. Nakai, Chiharu and Glinsman, W.: Interactions between polyamines and nucleo-

- ides. Biochem. 16: 5636-5640, 1977.
51. Silver, S; Wendt, L; Bhattacharyya, P. y Beauchamp, R.S.: Effects of polyamines on membrane permeability. Ann. N.Y. Acad. Sci. 171: 838-862, 1970.
52. Nakai, Chiharu and Glinesman, W.: Effects of polyamines on nucleosidediphosphate kinase activity. Biochem. Biophys. 74: 1419-1425, 1977.
53. Pegg, A.E. y Mc. Cann, P.H.: Polyamine metabolism and function. Am. J. Physiol. 243: (cell physiol. 12): C212-C221, 1982.
54. Shambaugh, G.E.: Urea biosynthesis I. The urea cycle and relations to the citric acid cycle. Am. J. Clin. Nutr. 30: 2083-2087, 1977.
55. Russell, D.H.: Drug stimulation of putrescine and spermidine synthesis relationship to enhancement of ribonucleic acid synthesis. Biochem. Pharmacol. 20: 3431-3491, 1971.
56. Mendez, J.D. Unpublished Data, 1985.
57. Dunzendorfer, U. and Feller, H.: The effect of α -difluoromethylornithine and tartaric acid on semen count, seminal GF, FSH, LH, testosterone and steroid excretion in patients with chronic prostatitis. Andrologia, 13(2): 100, 1981.
58. Sullivan, J.W. and Perrin, D.D.: The stability constants of metal-adenine nucleotide complexes. Biochem. 3: 18-26, 1964.
59. Bruce, T.C. and Benkovic, S.J.: Biorganic Mechanism. Vol. II, W.A. Benjamin, Inc. New York. 1966.
60. Tabor, H.: Biosynthesis and metabolism of 1,4-diaminobutane, spermine, spermidine and related amines. Adv. Enzymol. 36: 203-268, 1972.
61. Stevens, I. y Mc. Cann, L.M.: Interaction of polyamines with ribosomes and RNA. Ann. N.Y. Acad. Sci. 171: 827-837, 1970.
62. Szer, W.: Effect of polyamine on the secondary structure of synthetic polyribonucleotides. Ann. N.Y. Acad. Sci. 171: 801-808, 1970.
63. Izatt, R.M; Hansen, L.D., Bradshaw, J.S., Cristensen, J.J.: Metal-ligand interactions in organic chemistry and biochemistry. 337-361, 1977.
64. Leone, E; De Prisco, R; Annibalo, N. and La Montagna, R.: Polyamines in human semen, in advances, in polyamine research. Vol. 3. Caldera. C.M. Zappia, V.

- and Bachrach, U. Eds. Raven Press, N.Y. 1981, 473.
65. Cohen, S.S.: What do the polyamines do? Nature 274: 209-210, 1978.
66. Harrison, G.A.: Spermine in human tissues. Biochem. J. 25: 1855, 1931.
67. Seiler, N; Bolkenius, F.N. and Rennert, O.M.: Interconversion catabolism and elimination of the polyamines. Med. Biol. 59: 334-346, 1981.
68. Duffy, P.E. and Kremzner, L.T.: Ornithine decarboxylase activity and polyamines in relation to aging of human fibroblasts. Exp. Cell. Res. 108: 435-440, 1977.
69. Abdel-Monem, M.M; Newton, N.E. and Weeks, C.E.: Inhibitors of polyamine biosynthesis. J. Med. Chem. 17: 447, 1974.
70. Wallace, H.M.: The effects of polyamines on DNA synthesis in vitro. Biochem. Biophys. Acta. 652(2):354-357, 1981.
71. Bachrach, U.: Oxidized polyamines. Ann. N.Y. Acad. Sci. 171: 939-956, 1970.
72. Boyle, S.M; McIntyre, M.F. and Sells, B.H.: Polyamine levels in Escherichia coli during nutritional shift-up and exponential growth. Biochem. Biophys. Acta. 447: 221-227, 1977.
73. Boyle, M. and Adachi, K.: Biosynthetic ornithine and arginine decarboxylases correlation of rates of synthesis with activities in Escherichia coli during exponential growth and following nutritional shift-up. Can. J. Microbiol. 28(8): 945-950, 1982.
74. Strezelecka-Golaszewska, H; Prochniewicz, E. and Drabikowski, W.: Interaction of actin with divalent cations. Eur. J. Biochem. 88:219-227, 1978.
75. Amicosante, G; Oratore, A; Crito, C. and Finazzi Agro, A.: Rapid characterization and partial purification of various animal amine oxidases experientia. 40, 1140, 1984.
76. Oriol, Audit.: Possible inducers of actin polymerization in the cell. Acta. Protozool. 18: 187, 1979.
77. Algranati, I.D. and Goldemberg, S.H.: Polyamines and their role in protein synthesis. Trends Biochem Sci. 2:272, 1977.

78. Dickens, M.J. and Oriol, Audit.: The structure of actin polymers formed in the presence of polyamines. J. Muscle Cell Motil 1:489, 1980.
79. Experimental Nutrition : Magnesium deficiency and hypertension. Nutrition Rev. 42 (6) : 235-236, 1984.
80. Oriol, Audit.: Actin-polyamines interaction. Biochem. Biophys. Res. Commun. 105: 1096-1101, 1982.