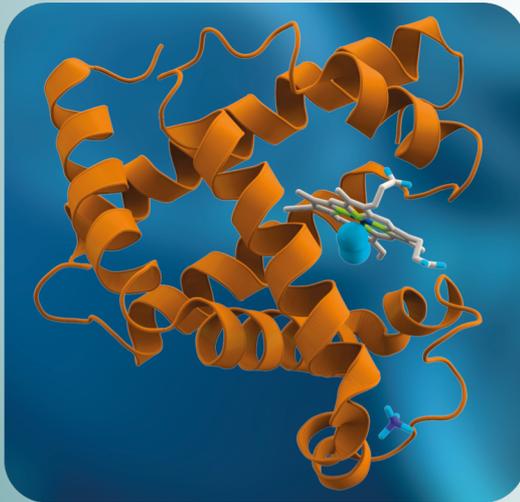


# Bioquímica Estructural y Metabólica

## TEMA 19: METABOLISMO DE NUCLEÓTIDOS



**Alfonso Bolado Carrancio**

DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR

Este material se publica bajo la siguiente licencia:

[Creative Commons BY-NC-SA 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)



## **TEMA 19. Metabolismo de nucleótidos**

Estructura y relevancia de los nucleótidos. Síntesis *de novo* de nucleótidos y desoxirribonucleótidos. El metabolismo de nucleótidos como diana farmacológica. Rutas de degradación y salvamento. El ácido úrico

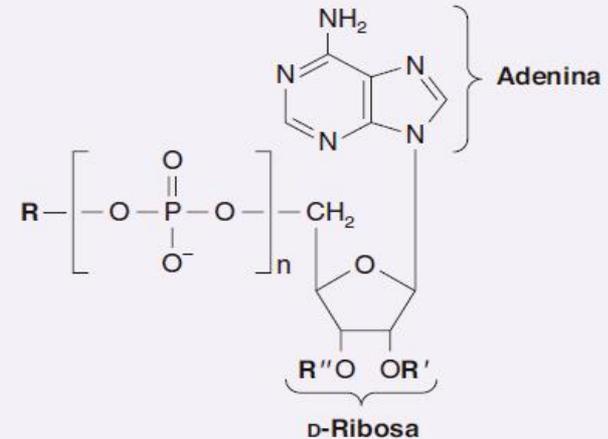
# Estructura y relevancia de los nucleótidos

# PAPEL DE LOS NUCLEÓTIDOS

Relevancia de los nucleótidos:

1. Síntesis de los ácidos nucleicos
2. Almacenamiento de energía (ATP/GTP)
3. Síntesis de coenzimas
4. Señalización (cAMP)
5. Formación de intermediarios activados (UDP-glucosa, CDP-DAG)

## Coenzimas derivados de AMP



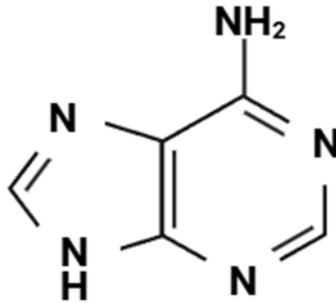
Coenzima	R	R'	R''	n
Metionina activa	Metionina <sup>1</sup>	H	H	0
Aminoácido adenilatos	Aminoácido	H	H	1
Sulfato activo	SO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	H	PO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	1
AMP 3',5'-cíclico		H	PO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	1
NAD <sup>2</sup>	Nicotinamida	H	H	2
NADP <sup>2</sup>	Nicotinamida	PO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	H	2
FAD	Riboflavina	H	H	2
Coenzima A	Pantotenato	H	PO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	2

<sup>1</sup> Reemplaza al grupo fosforilo.

<sup>2</sup> R es un derivado de la vitamina B.

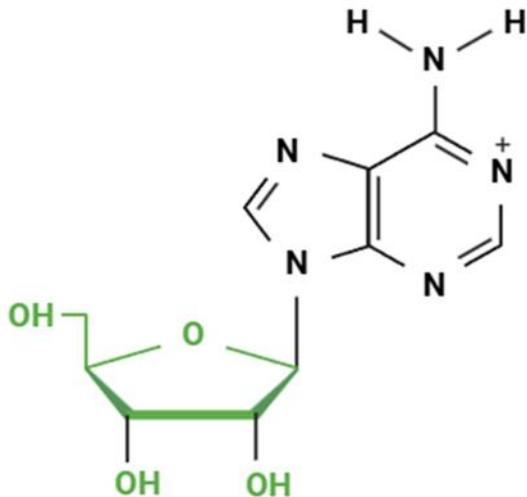
# Estructura de los nucleótidos

Base

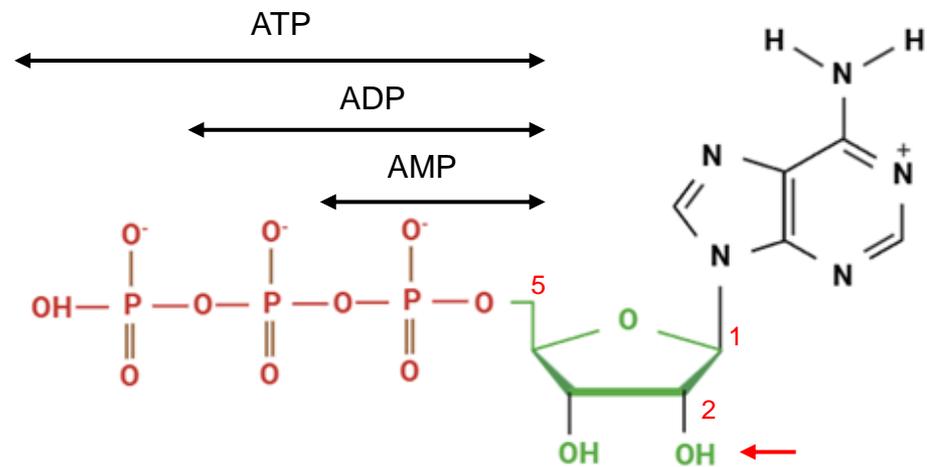


Hay dos tipos de bases nitrogenadas, purinas y pirimidinas. Cuando se condensan con un azúcar (ribosa), se forman los nucleósidos. Los nucleótidos son las formas mono-, bi- o trifosforiladas de un nucleósido.

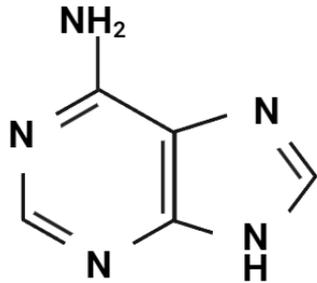
Nucleósido  
(base + azúcar)



Nucleótido  
(base + azúcar +  
fosfato)



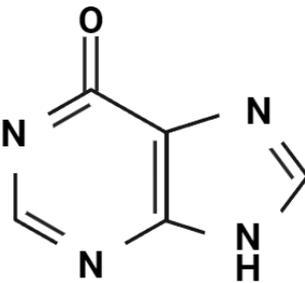
# Nucleótidos de purina



BASE :            **ADENINA**

NUCLEÓSIDO :   **ADENOSINA**

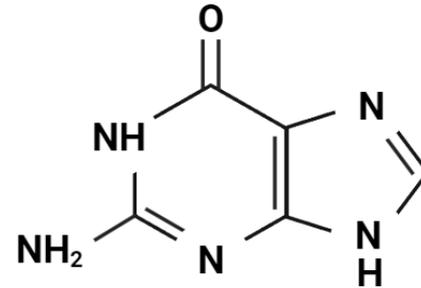
NUCLEÓTIDOS: AMP, ADP, ATP  
                  dADP, dATP



**HIPOXANTINA**

**INOSINA**

IMP



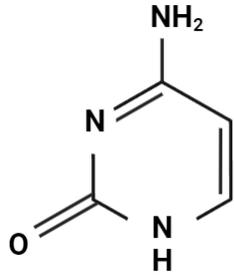
**GUANINA**

**GUANOSINA**

GMP, GDP; GTP  
                  dGDP, dGTP

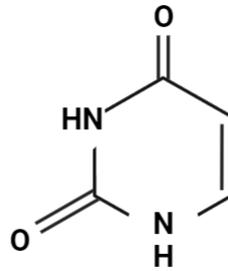
Hay tres nucleótidos de purina, pero la Inosina solo existe en forma de inosina monofosfato, como intermediario en la síntesis o degradación de las otras purinas.

# Estructura de los nucleótidos de pirimidina

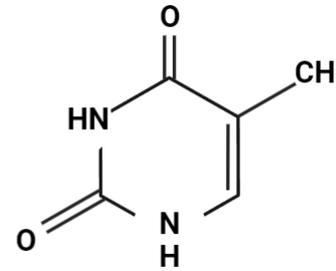


BASE :

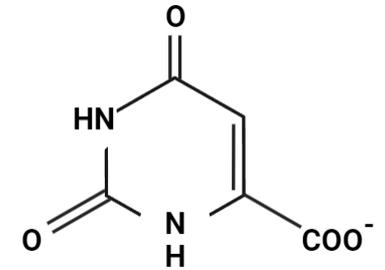
CITOSINA



URACILO



TIMINA



OROTATO

NUCLEÓSIDO:

CITIDINA

URIDINA

TIMIDINA

OROTIDINA

NUCLEOTIDOS :

CDP, CTP  
dCMP, dCDP, dCTP

UMP, UDP, UTP  
dUDP, dUMP

dTMP, dTDP, dTTP

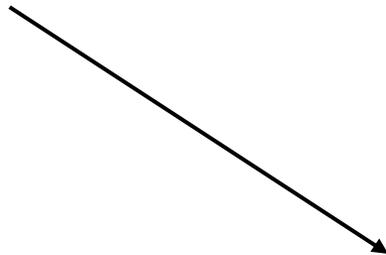
OMP

Hay cuatro nucleótidos de pirimidina, pero el orotato monofosfato sólo existe en la síntesis de las otras pirimidinas. El uracilo solo forma parte del RNA, por eso no existen formas deoxinucleótido trifosfato. Las formas deoxi mono y diosfato son intermediarias en la síntesis de deoxitimidina. Sólo se incorpora al DNA, por eso solo existen formas deoxitimidina.

# Obtención de nucleótidos

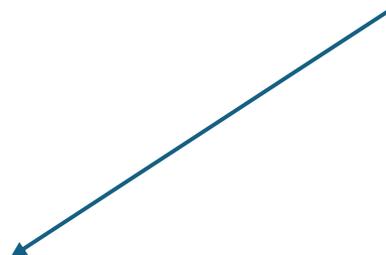
## Síntesis *de novo*

PRPP  
+  
Aa., CO<sub>2</sub>, THF, ATP.....



## Rutas de salvamento

PRPP/Ribosa activada  
+  
Base nitrogenada



**Nucleótido**

Existen dos rutas de síntesis de nucleótidos, la síntesis *de novo* y las rutas de salvamento. En la síntesis *de novo* se sintetiza la base nitrogenada, la ruta es específico del tipo de nucleótido a sintetizar. En las rutas de salvamento se recicla la base nitrogenada uniéndose directamente a fosforribosil pirofosfato (PRPP).

Síntesis *de novo* de nucleótidos y desoxirribonucleótidos.

# Metabolismo de nucleótidos de purina y pirimidina.

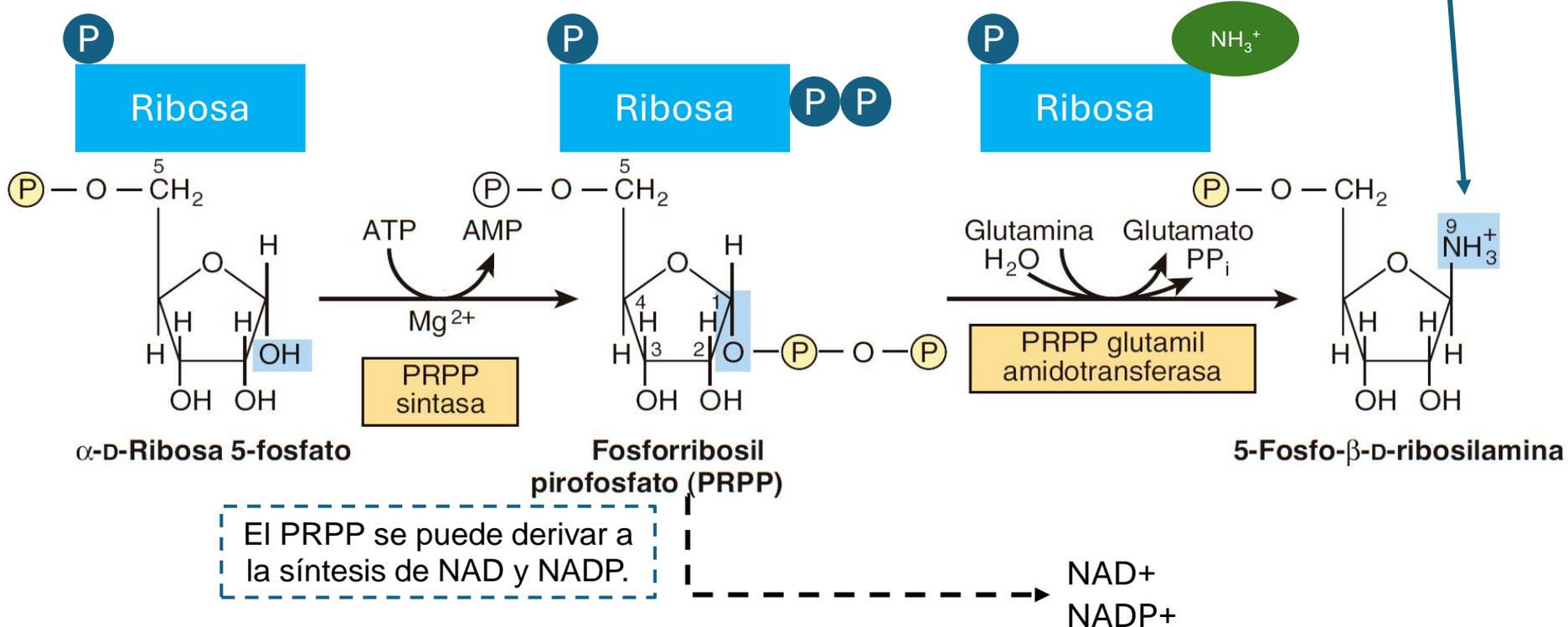
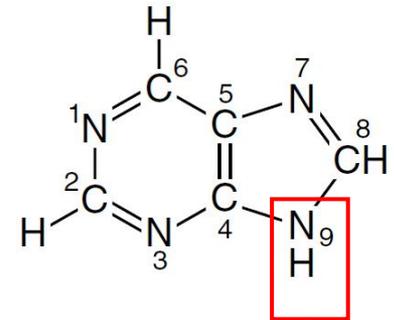
- 1) **No hay reservas de nucleótidos** y la absorción intestinal de bases es mínima (un 5% de lo presente en la dieta) → **Hace falta sintetizarlos según se necesiten para incorporarlos en el DNA y RNA.**
- 2) Hay rutas de biosíntesis ***de novo* y de recuperación.**
- 3) Las rutas de biosíntesis son bastante diferentes para los nucleótidos de purina y pirimidinas, pero hay moléculas comunes en la biosíntesis: **PRPP** y Gln (como donador de N).

# Síntesis de nucleótidos de purina

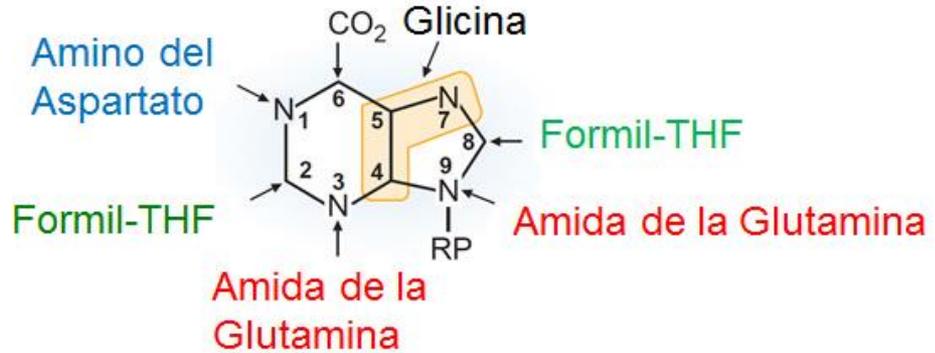
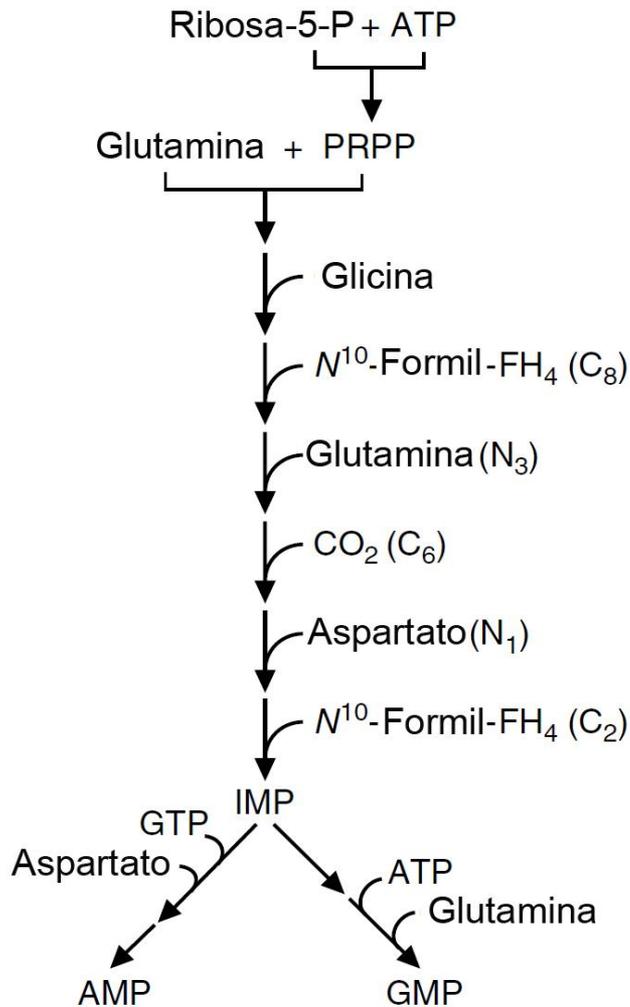
1. Síntesis de ribosa-5-fosfato (ruta de las pentosas).
2. Síntesis de fosforribosil-pirofosfato (PRPP) y fosforribosil-amina a partir de ribosa-5-fosfato.
3. Edificación del anillo sobre el nitrógeno de la fosforribosil- amina. El producto final es la Inosina monofosfato (IMP).
4. Síntesis de AMP y GMP a partir de IMP.
5. Conversión en nucleótidos difosfato y trifosfato.
6. Síntesis de desoxirribonucleótidos (ribonucleótido reductasa).

# Síntesis de 5-Fosforribosil 1- Pirofosfato (PRPP) y 5-fosforribosilamina

- 1) Ribosa 5-fosfato: Substrato para la obtención de PRPP. Es un intermediario de la ruta de las pentosas fosfato.
- 2) Fosforribosil pirofosfato o PRPP es sintetizado por la PRPP sintasa transfiriendo un P<sub>i</sub> del ATP a la ribosa 5-fosfato. Está altamente regulada, siendo el principal mecanismo la inhibición alostérica por purinas.
- 3) La 5-fosforribosilamina se sintetiza mediante la aminación del carbono 1, donde la glutamina cede el grupo amino y la liberación del pirofosfato la energía para la reacción. Es el primer paso de la síntesis de purinas, ya que el bicyclo se sintetiza a partir del grupo amino. Este paso compromete el PRPP a la síntesis de purinas.



# Síntesis *de novo* nucleótidos de purina

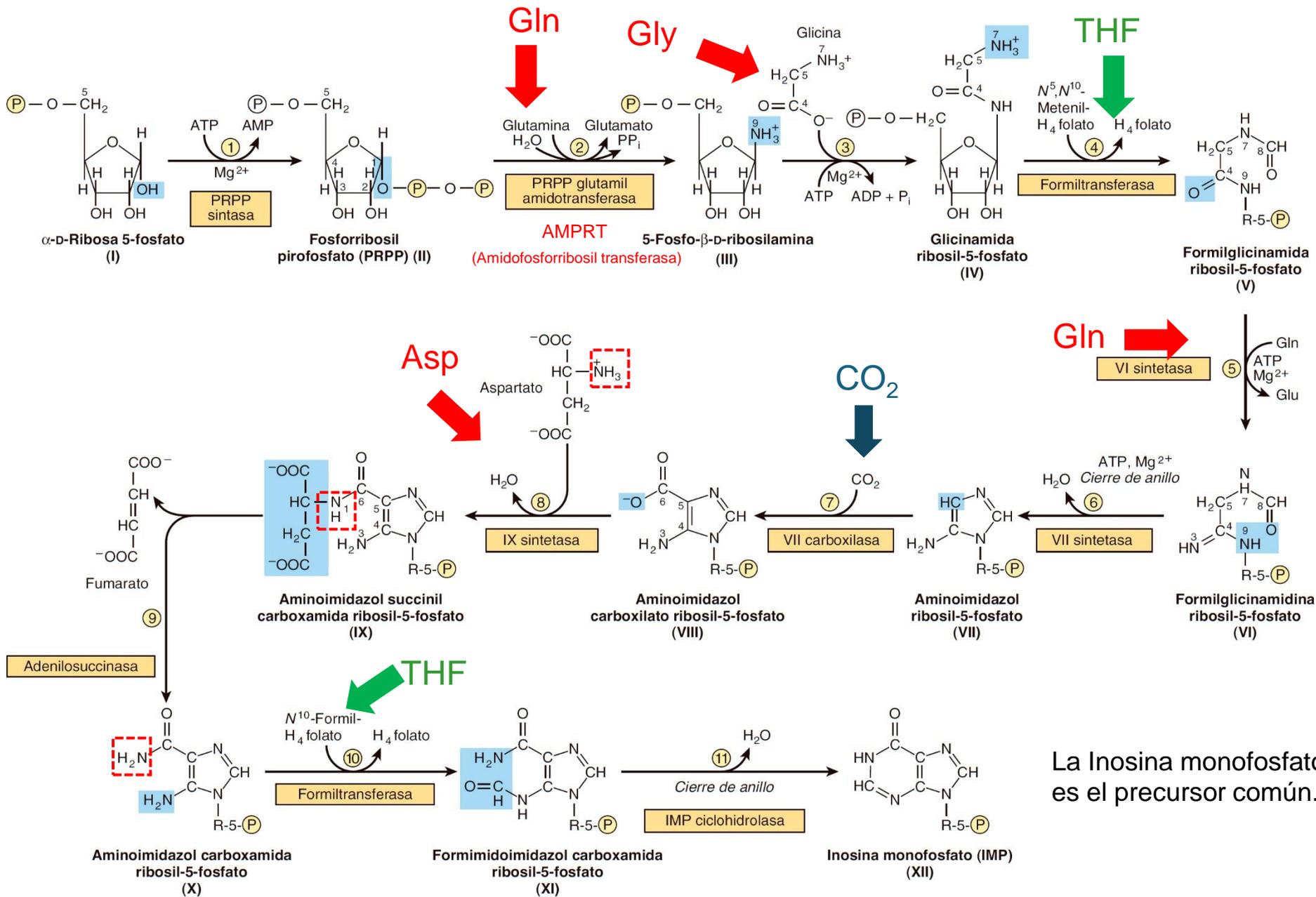


Las purinas están compuestas por una estructura bicíclica. El primer paso, es la síntesis de fosforribosilamina. A partir de del grupo amino en C1 se sintetiza el biciclo por adición de distintos compuestos en 10 reacciones secuenciales, resumidas en las figuras de esta diapositiva. La primera purina que se sintetiza es Inosina monofosfato (IMP), las otras purinas derivan de esta. IMP es la única forma en nucleótido de hipoxantina que existe en seres humanos.

Las reacciones hasta la síntesis de IMP se detallan en la siguiente diapositiva. Cabe resaltar que los aminoácidos ceden grupos amino, excepto la glicina, que pasa a formar parte de la estructura del biciclo.

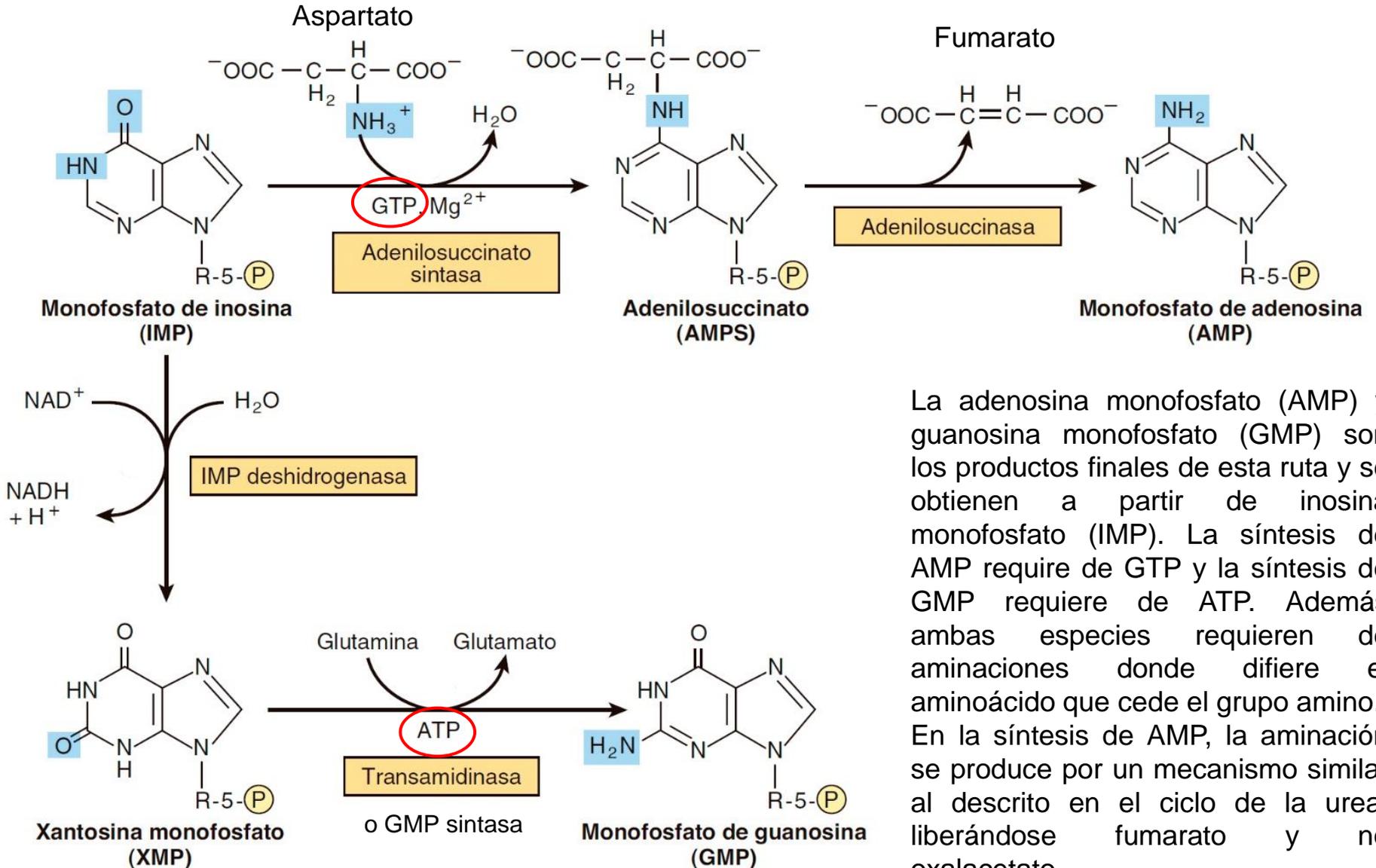
La glutamina cede el grupo amino de su cadena lateral con gasto de ATP. El aspartato cede su grupo amino en dos pasos, liberándose fumarato de forma similar al ciclo de la urea.

Hay dos tipos de fragmentos monocarbonados que se emplean en la síntesis de IMP, CO<sub>2</sub> por una carboxilasa y fórmico que es cedido por el tetrahidrofolato (N10-Formil-THF).



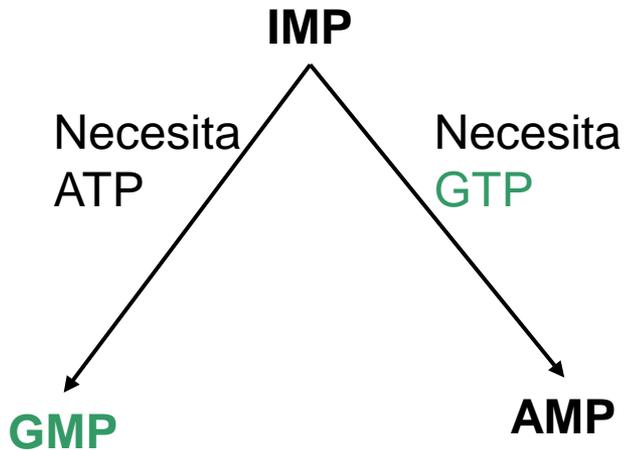
La Inosina monofosfato es el precursor común.

# Síntesis de AMP y GMP a partir de IMP: papel en el equilibrio de nucleótidos



La adenosina monofosfato (AMP) y guanósina monofosfato (GMP) son los productos finales de esta ruta y se obtienen a partir de inosina monofosfato (IMP). La síntesis de AMP requiere de GTP y la síntesis de GMP requiere de ATP. Además ambas especies requieren de aminaciones donde difiere el aminoácido que cede el grupo amino. En la síntesis de AMP, la aminación se produce por un mecanismo similar al descrito en el ciclo de la urea, liberándose fumarato y no oxalacetato.

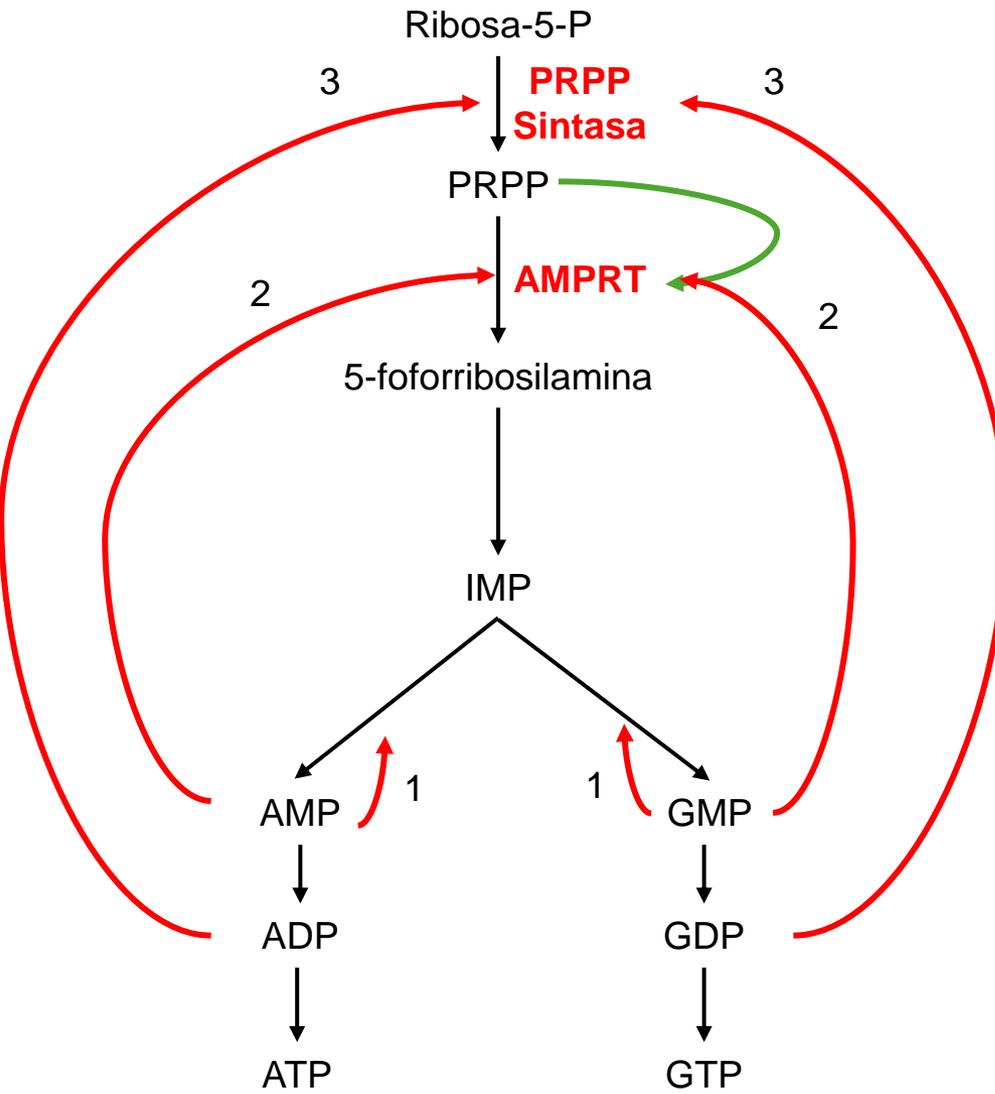
# Síntesis de AMP y GMP a partir de IMP: papel en el equilibrio de nucleótidos



Un concepto esencial en la síntesis de nucleótidos es que esta síntesis tiene que ser balanceada. Esto significa que la célula tiene que generar cantidades similares de todos los nucleótidos.

Para conseguir esta síntesis balanceada existen diferentes mecanismos de regulación. En el caso de las purinas, guanósina y adenosina monofosfato se generan a partir de Inosina monofosfato o IMP. Para conseguir un flujo equilibrado de IMP a ambas especies, la síntesis de cada una de las purinas derivadas de IMP necesita del nucleótido trifosfato de la otra especie. De esta forma cuando los niveles de una especie son bajas, se inhibe el flujo de IMP a la síntesis de la otra especie.

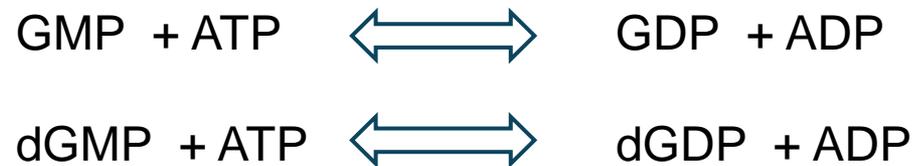
# La regulación de la síntesis de nucleótidos se hace por retroinhibición.



- 1) AMP y GMP inhibición de su síntesis a partir de IMP.
- 2) Adenina y guanina (mono, pero también bi y tri-P) inhiben, la síntesis de 5-fosforribosilamina por la AMPRT o (Amidofosforribosil transferasa). Inhibición sinérgica. El PRPP activa alostéricamente la síntesis de 5-fosforribosilamina. **Principal punto de regulación de la ruta.**
- 3) ADP y, en menor medida, GDP inhiben la síntesis de PRPP.

# Conversiones entre nucleótidos

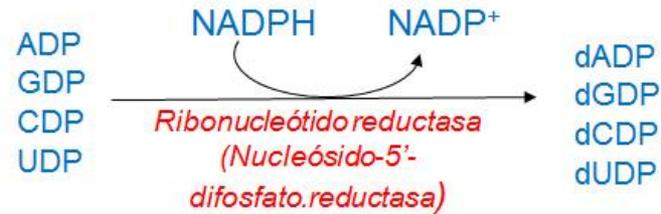
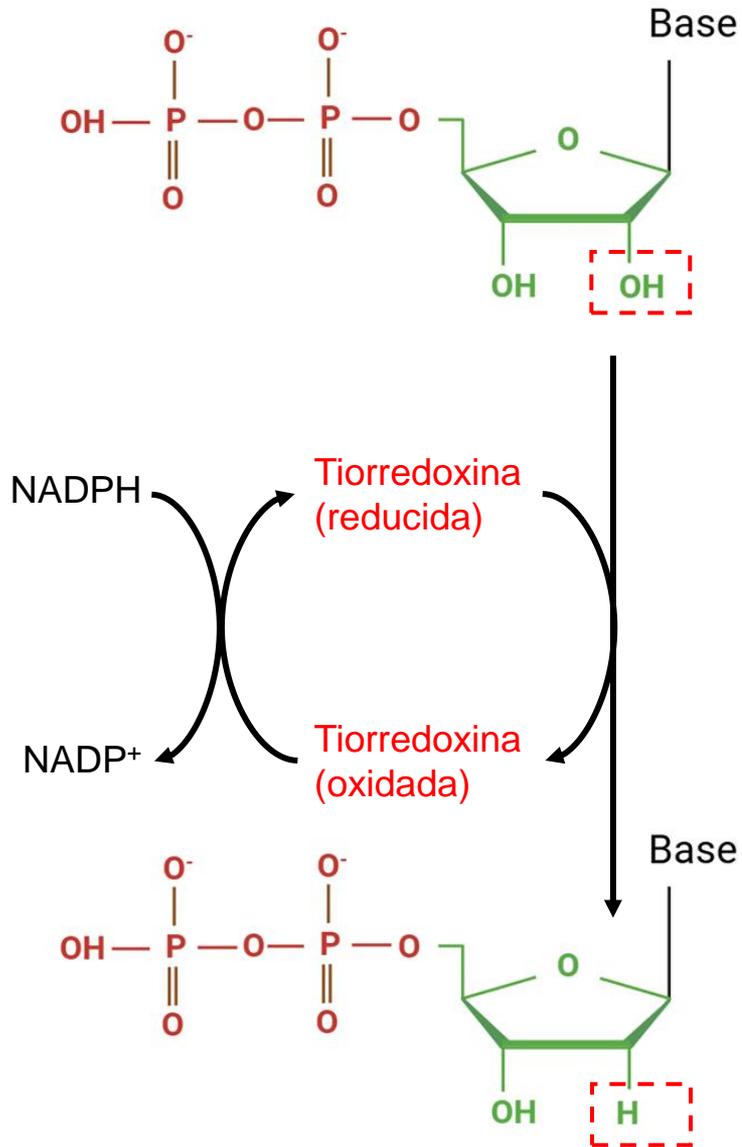
En la conversión de nucleótidos monofosfato a nucleótidos difosfato, las quinasas son específicas para la base, pero inespecíficas para el azúcar. Las reacciones son reversibles. Por ejemplo, el mismo enzima catalizaría las reacciones:



En la conversión de nucleótidos difosfato a nucleótidos trifosfato, el mismo enzima (**nucleósido difosfato quinasa o NDPK**) cataliza todas las reacciones, sea cual sea la base y el azúcar

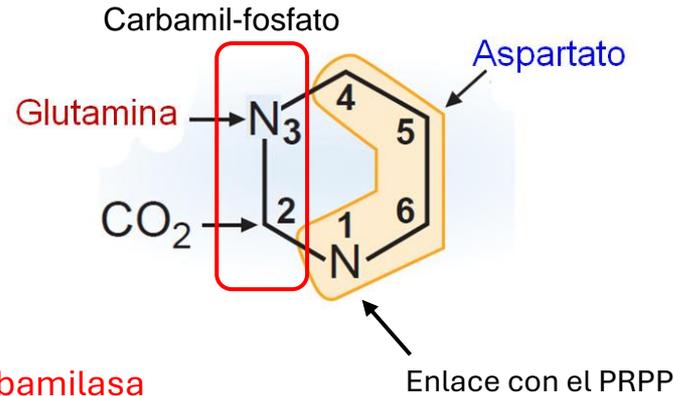
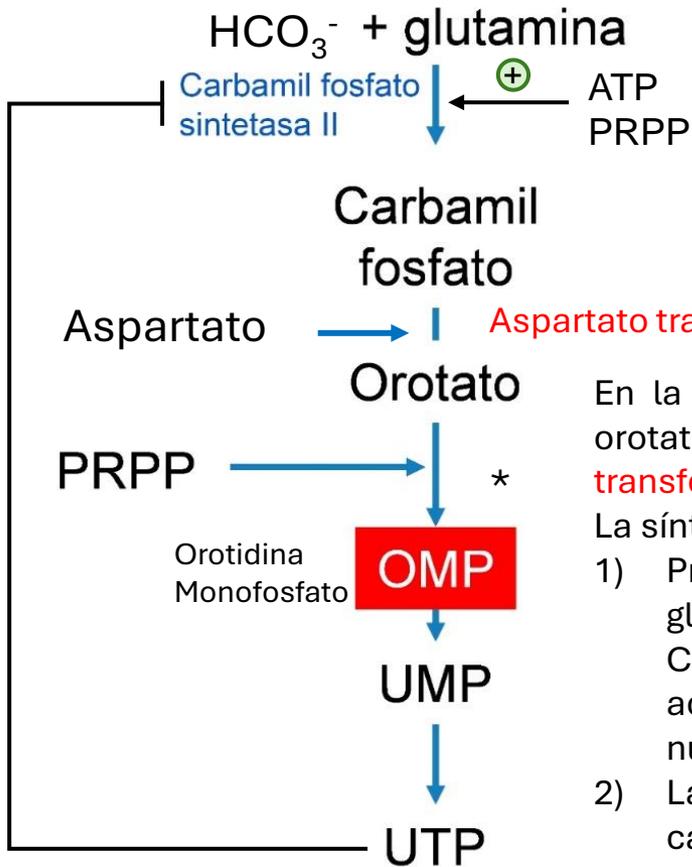


# Síntesis de desoxirribonucleótidos



- La conversión de los nucleótidos en desoxinucleótidos se lleva a cabo a partir de los **nucleótidos difosfato (NDP)**.
- Se trata de una reducción llevada a cabo por la **Ribonucleótido reductasa**, un enzima sujeto a una regulación muy compleja.
- El poder reductor lo aporta el NADPH mediante un enzima (**tioredoxina reductasa**) que reduce la proteína tiorredoxina. La tiorredoxina reducida es utilizada por la ribonucleótido reductasa para reducir los nucleósidos difosfato.
- **Los desoxinucleótidos de timidina** no se forman mediante esta reacción, sino que **derivan de dUDP**.

# Síntesis de nucleótidos de pirimidina: Síntesis de Uridina



En la síntesis de pirimidinas, primero se sintetiza la base nitrogenada orotato y posteriormente se condensa con PRPP por la **orotato fosforribosil transferasa**\*.

La síntesis de orotato se produce en dos pasos:

- 1) Primero se sintetiza carbamil fosfato por la CPS II, que emplea glutamina en vez de amonio libre como la CPSI (ver ciclo de la urea). CPSII está regulada negativamente por UTP (intermediario de la ruta) y activada por PRPP (señaliza disponibilidad para sintetizar nucleótidos) y ATP (balancea la cantidad de nucleótidos sintetizados).
- 2) La **aspartato transcarbamilasa sintetiza orotato** a partir de aspartato y carbamil fosfato. Tiene un mecanismo de regulación complejo que se estudiará más adelante.

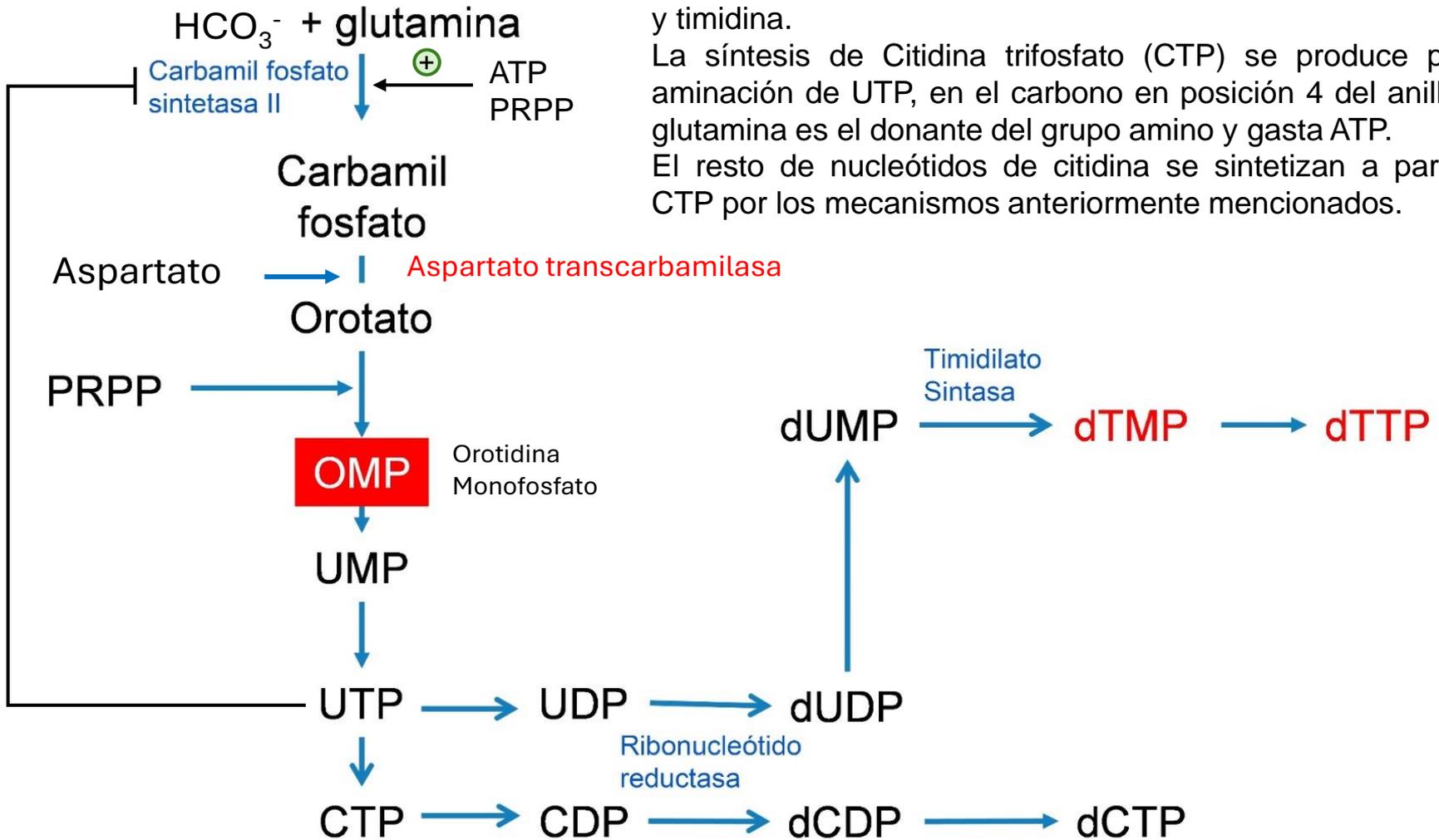
Una vez formada la orotidina monofosfato (OMP), se sintetiza Uridina monofosfato (UMP) por una sintetasa activada alostericamente por OMP (activación por sustrato). El UMP se convierte a UTP (foram trifosfato) por una quinasa con gasto de ATP.

# Síntesis de nucleótidos de pirimidina: Síntesis de Citosina

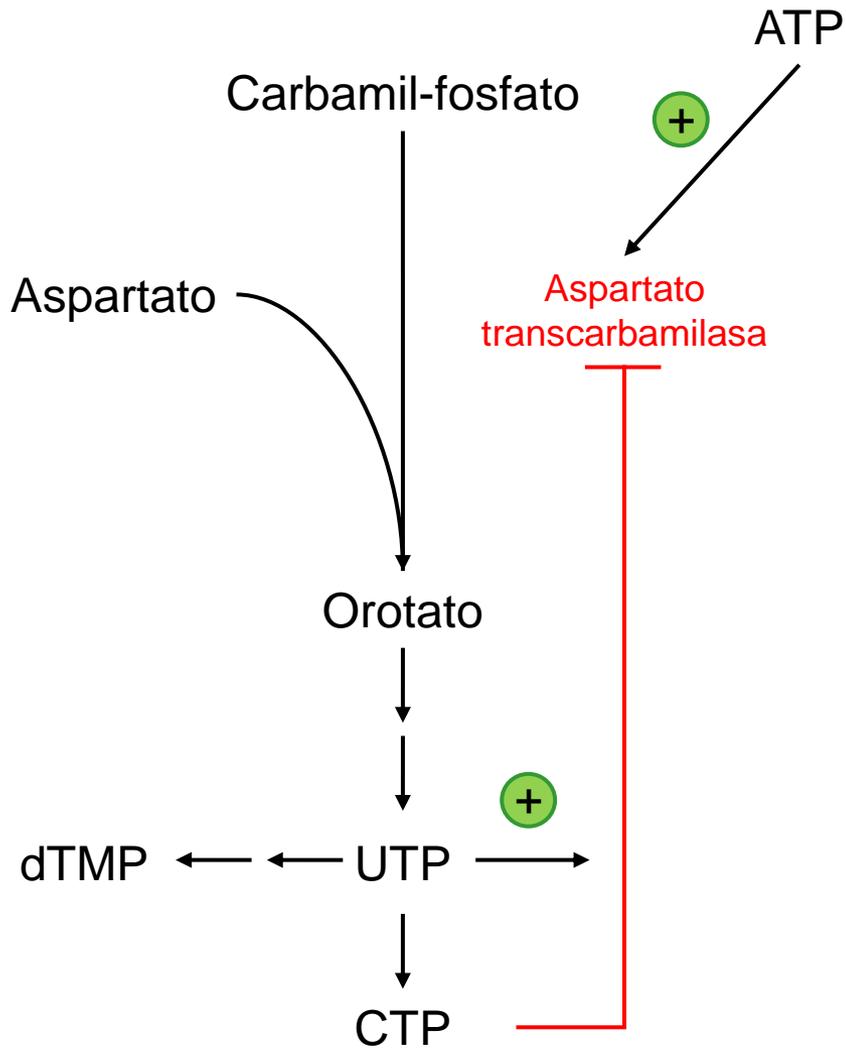
A partir de Uridina monofosfato (UMP) se sintetiza Uridina trifosfato (UTP). Este es el último precursor común de citidina y timidina.

La síntesis de Citidina trifosfato (CTP) se produce por la aminación de UTP, en el carbono en posición 4 del anillo. La glutamina es el donante del grupo amino y gasta ATP.

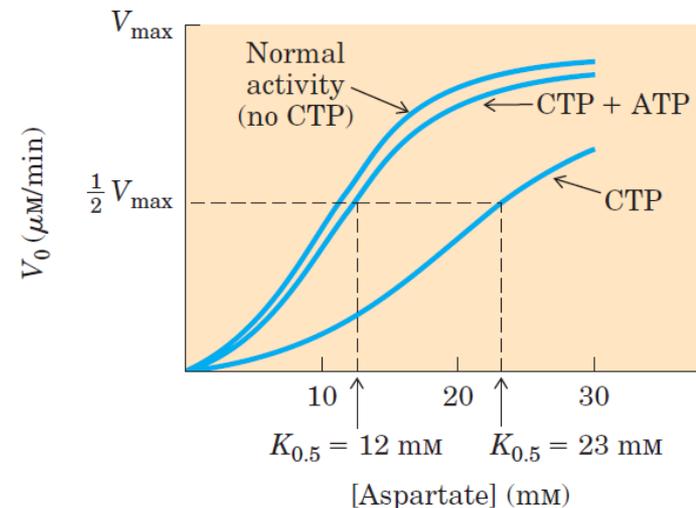
El resto de nucleótidos de citidina se sintetizan a partir de CTP por los mecanismos anteriormente mencionados.



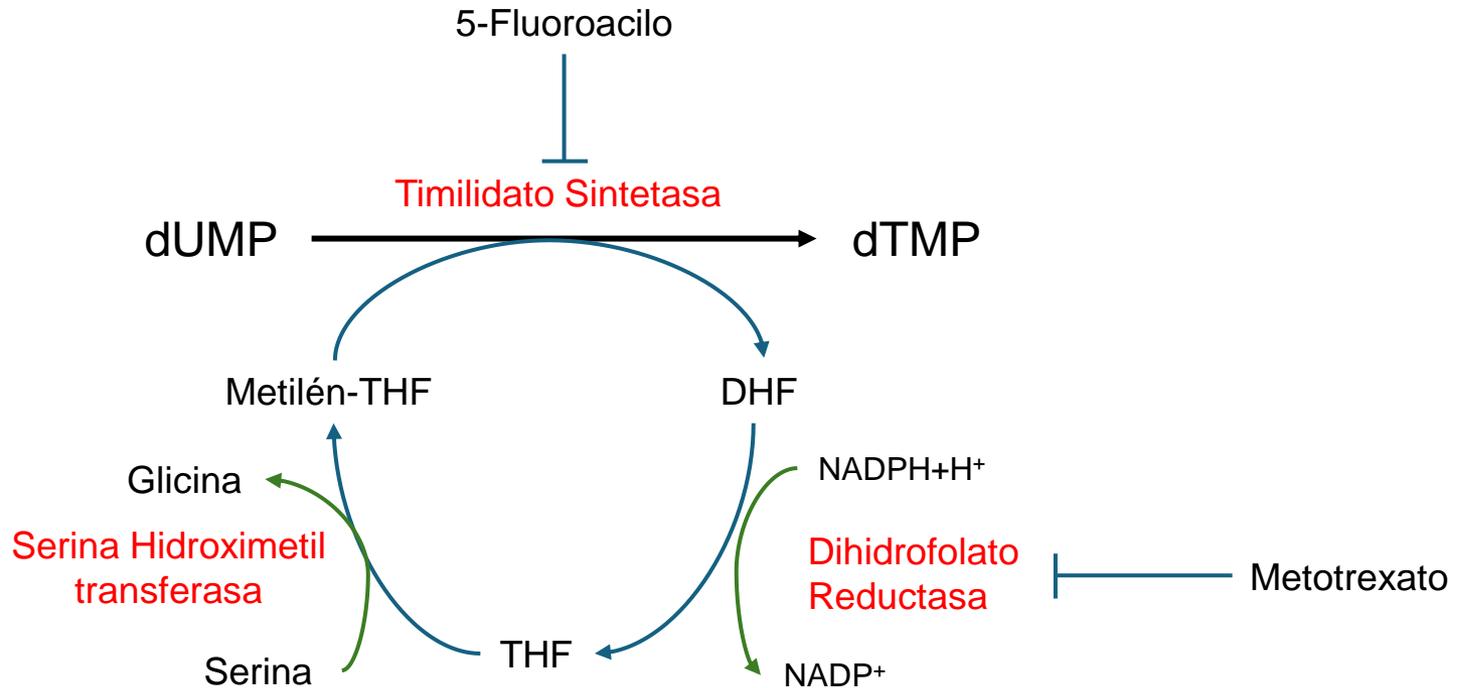
# Regulación de la Aspartato transcarbamilasa



- La **Aspartato transcarbamilasa** es uno de los puntos principales de regulación de la síntesis de pirimidinas.
- Tiene 6 subunidades catalíticas y 6 reguladoras, organizadas en 2 trímeros catalíticos y 3 dímeros reguladores. Las subunidades reguladoras tienen sitios de alta afinidad y de baja afinidad.
- Si el **CTP** se une a los sitios de alta afinidad, e inhibe su actividad. **Inhibición por producto**. El **UTP favorece esta inhibición** uniéndose a los sitios de baja afinidad, favoreciendo la unión de CTP a los de alta afinidad.
- El **ATP compite con el CTP** por los sitios de alta afinidad. De esta forma **las purinas inducen la síntesis de pirimidinas**, lo que favorece una síntesis equilibrada de ambas.



# Síntesis de dTMP a partir del dUMP



- Es la única reacción del metabolismo en la que se forman nucleótidos de timidina. Cataliza la metilación del Carbono en posición 5 del anillo.
- Para su síntesis el UTP es convertido a UMP por la UMP quinasa.
- Requiere de N5-N10-Metilén tetrahidrofolato (recordad los ciclos del metilo).
- Debido a que esta es el único enzima que puede realizar la síntesis de nucleótidos de timidina, diversos fármacos se han empleado para inhibirla en tratamientos anticancerígenos. Otras estrategias se han basado en inhibir la regeneración de DHF, lo que evita la formación de N5-N10-Metilén-THF.

El metabolismo de nucleótidos como diana farmacológica.

# Fármacos análogos de bases o nucleótidos

Antimetabolito: Sustancia que, por su similitud estructural con un metabolito natural, puede desplazar o competir con dicho metabolito. Los antimetabolitos son la base de muchas terapias antivirales, antimicrobiales y de tratamientos contra el cáncer.

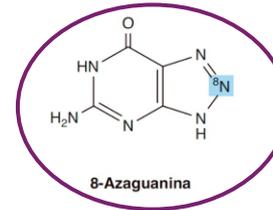
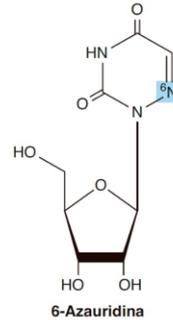
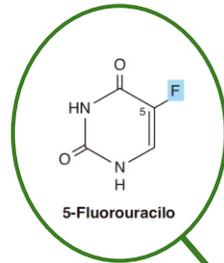
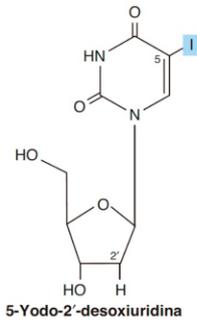
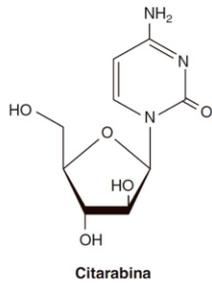
Ej. El metotrexato es un antimetabolito del ácido fólico y el 5-fluorouracilo lo es del monofosfato de desoxiuridina.



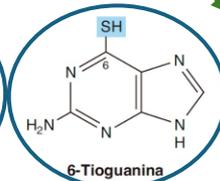
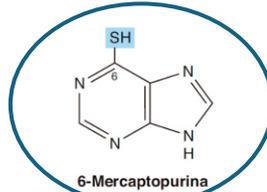
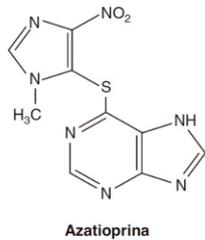
Gertrude B. Elion y George H. Hitchings, padres de la teoría de los antimetabolitos y premios nobel de medicina de 1988.

# Fármacos análogos de bases o nucleótidos

## Antitumorales



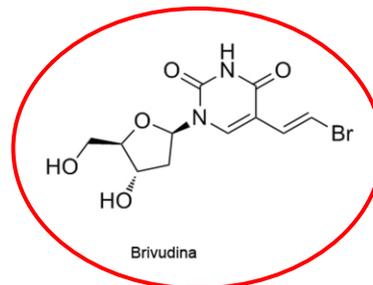
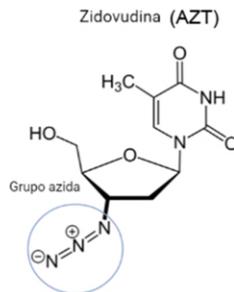
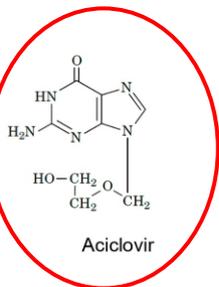
Se incorpora al RNA induciendo *splicing* aberrante.



Inhibidor de la timidato sintasa

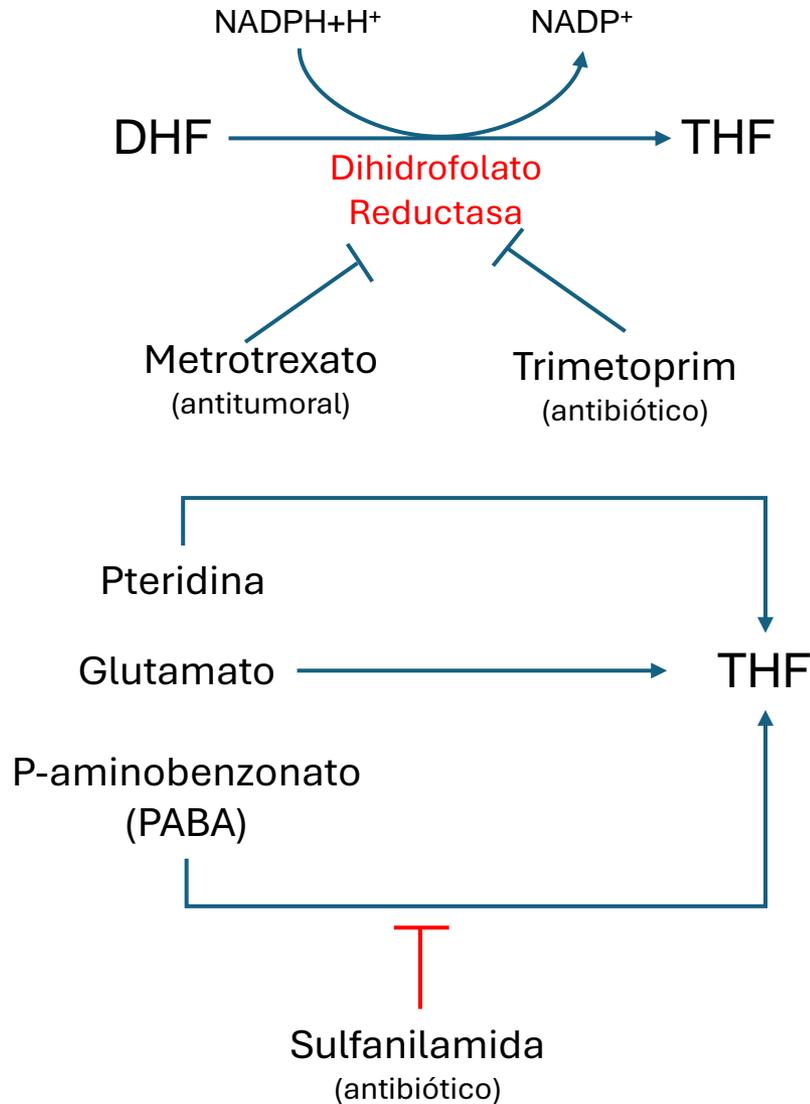
Análogos de purinas que inducen una inhibición de su síntesis.

## Antivirales



Análogos de timidina sólo reconocido por enzimas virales. Inhiben la replicación del virus al incorporarse a su DNA.

# La inhibición de la Dihidrofolato reductasa es la base de muchos tratamientos antibióticos y antitumorales.



-La reacción de la timidilato sintasa es la única vía para formar dTMP, un nucleótido esencial para el DNA.

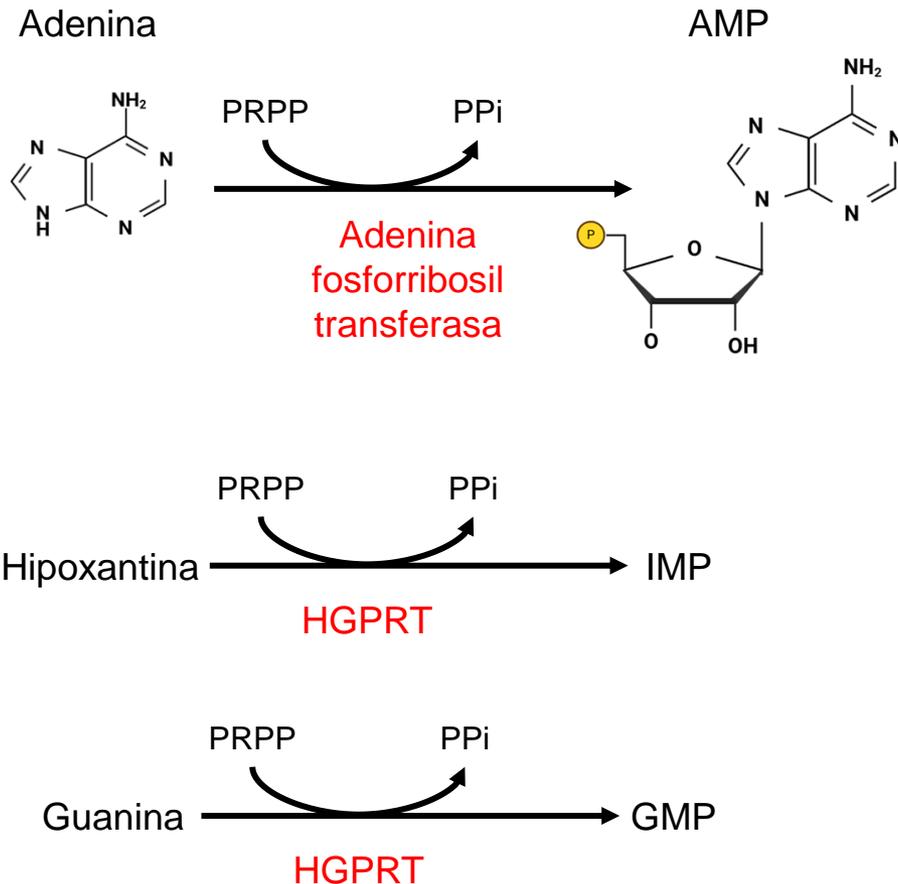
-Se puede **inhibir** la reacción indirectamente inhibiendo el **reciclaje del dihidrofolato**.

-Los **inhibidores de la dihidrofolato reductasa** son análogos del ácido fólico) que pueden utilizarse para inhibir la replicación bacteriana (trimetoprim) o para la proliferación de células tumorales (metotrexato).

-En el caso de las bacterias (que sintetizan ácido fólico) también se pueden utilizar análogos del p-amino-benzoico (sulfamidas) para evitar la síntesis de THF.

Rutas de degradación y salvamento. El ácido úrico.

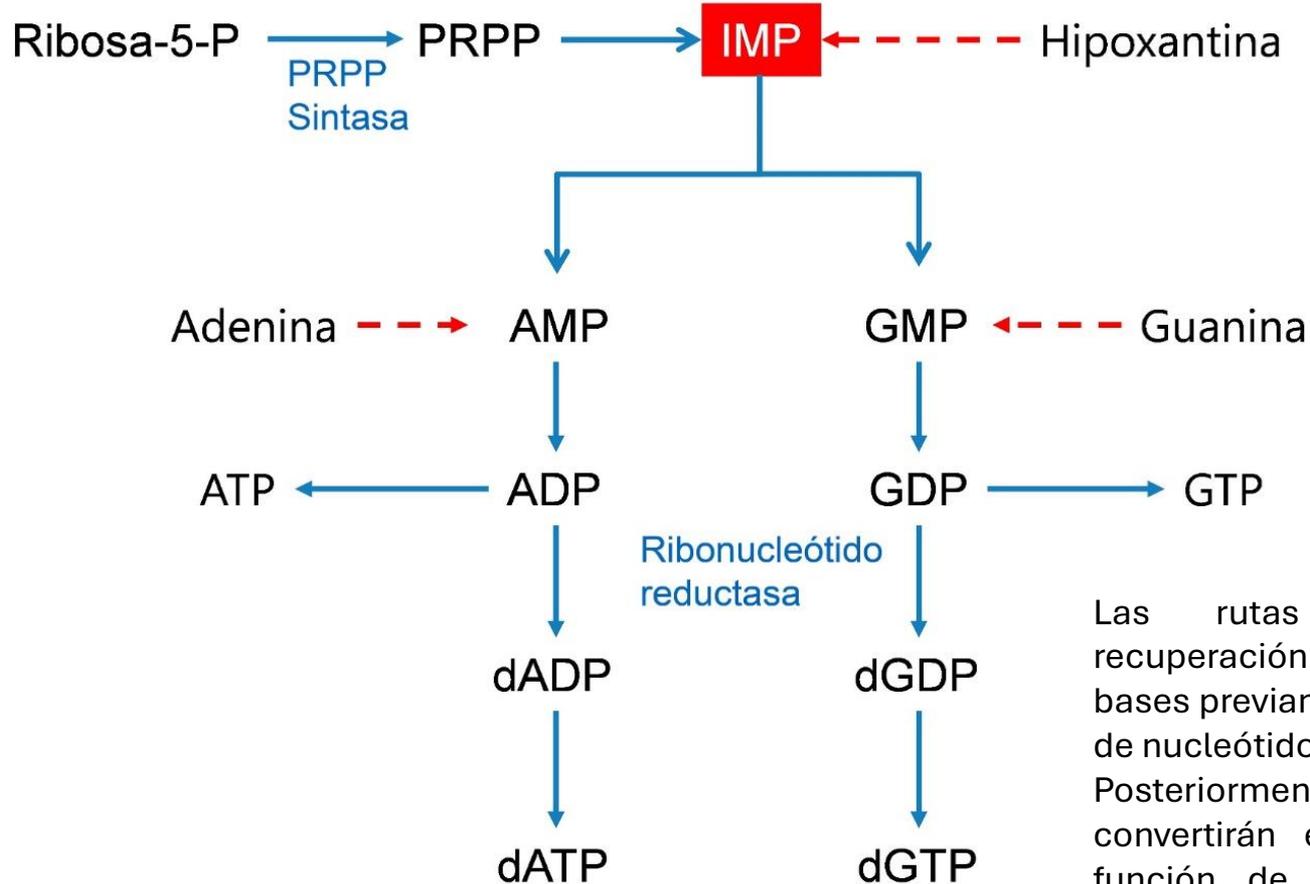
# Rutas de recuperación o salvamento de purinas



La degradación de los nucleótidos produce bases que pueden ser recicladas mediante la unión a PRPP. **Existen dos enzimas: uno que recupera guanina e hipoxantina** (hipoxantina-guanina fosforribosil transferasa- **HGPRT**) **y otro que recupera la adenina**. Los productos de la reacción son los respectivos nucleótidos monofosfato. La deficiencia grave en HGPRT da lugar al síndrome de Lesch-Nyhan.

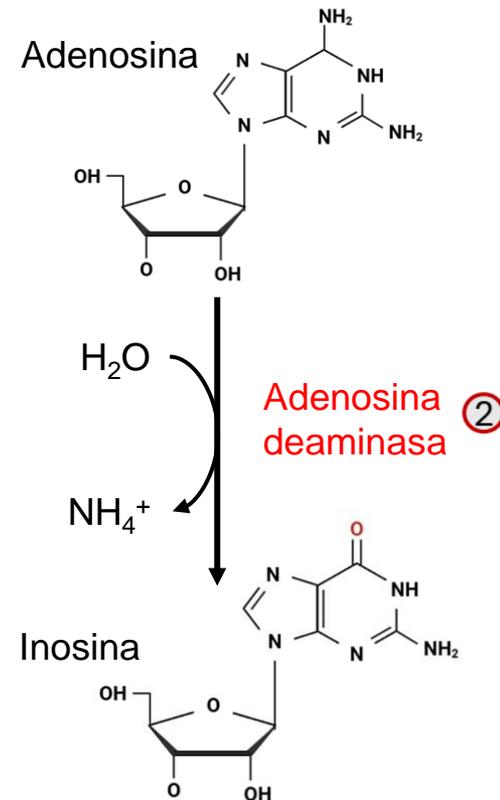
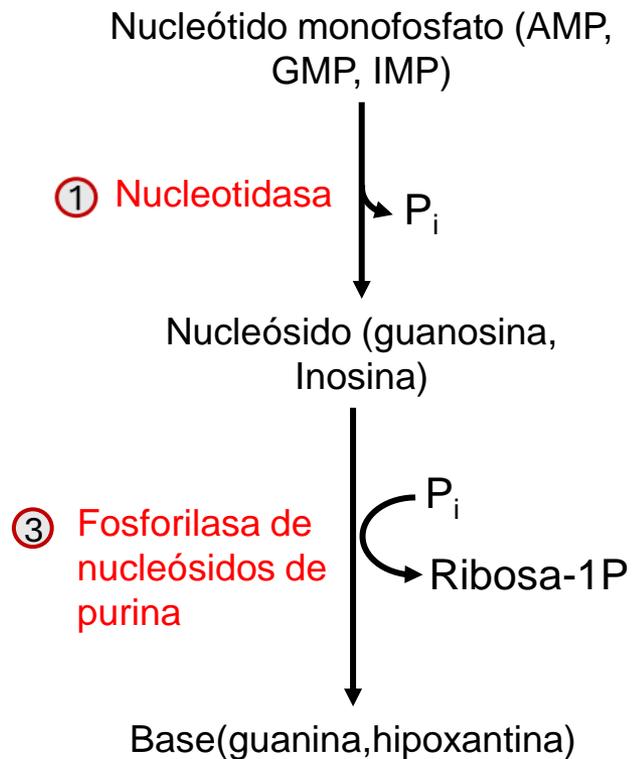
Síndrome de Lesch-Nyhan:  
Producido por la acumulación de ácido úrico.

# Síntesis de nucleótidos de purina



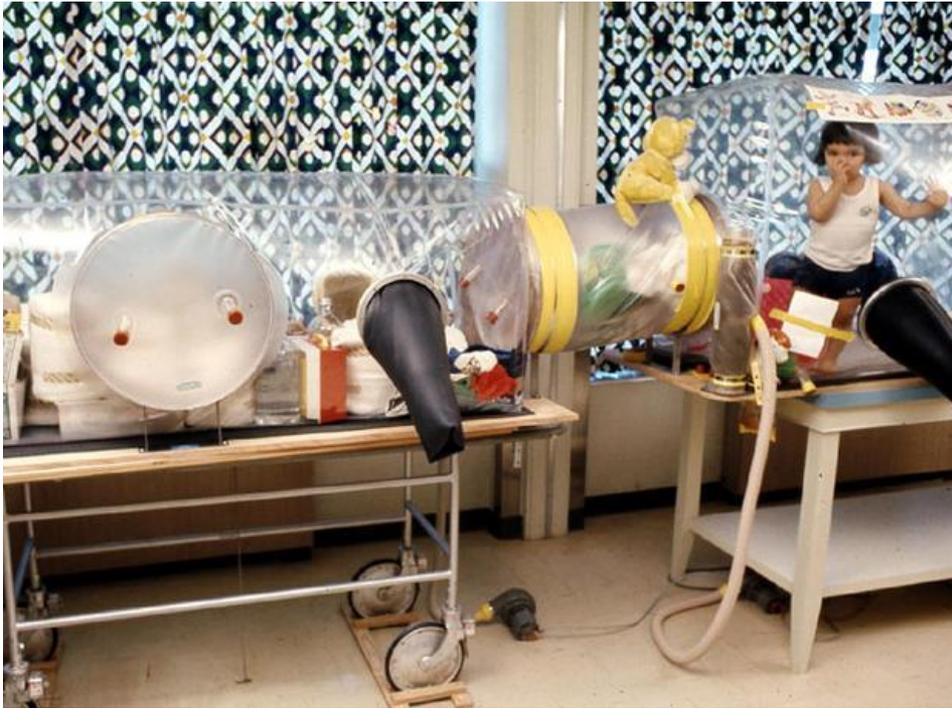
— de novo  
- - - de recuperación

# Los nucleótidos de purina se degradan mediante nucleotidasas y nucleosidasas liberando las bases.



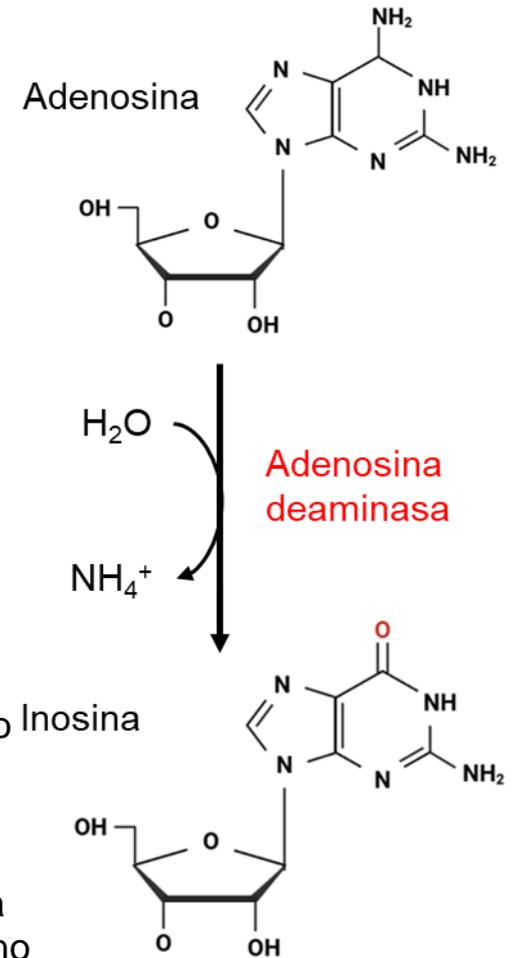
- 1) En la degradación de purinas el primer paso es la conversión a monofosfato por las nucleótido quinasas y la posterior eliminación del grupo fosfato remanente, dando lugar a nucleósidos por una nucleotidasa.
- 2) Los nucleósidos (y deoxinucleósidos) de adenosina tiene que ser convertidos a inosina por la adenosina deaminasa.
- 3) La fosforilasa de nucleósidos de purina rompe el N-glucosídico entre la base nitrogenada y la ribose empelando fosfato inorgánico y generando ribosa- 1-P y la base nitrogenada.

# Inmunodeficiencia combinada severa (SCID) defecto en adenosina deaminasa\*



David Vetter

\* La acumulación de desoxiadenosina, que se produce por defectos en el funcionamiento de la adenosina deaminasa, es muy tóxica para los linfocitos, lo que compromete el sistema inmune. La SCID produce un sistema inmune extremadamente deficiente y es letal sin diagnóstico. Se hizo famosa gracias a David Vetter, apodado niño burbuja. Creció en un ambiente aséptico y controlado para tratar de evitar las infecciones. Vivió hasta los 12 años. Actualmente el tratamiento es transplante con células madre que no porten la mutación.



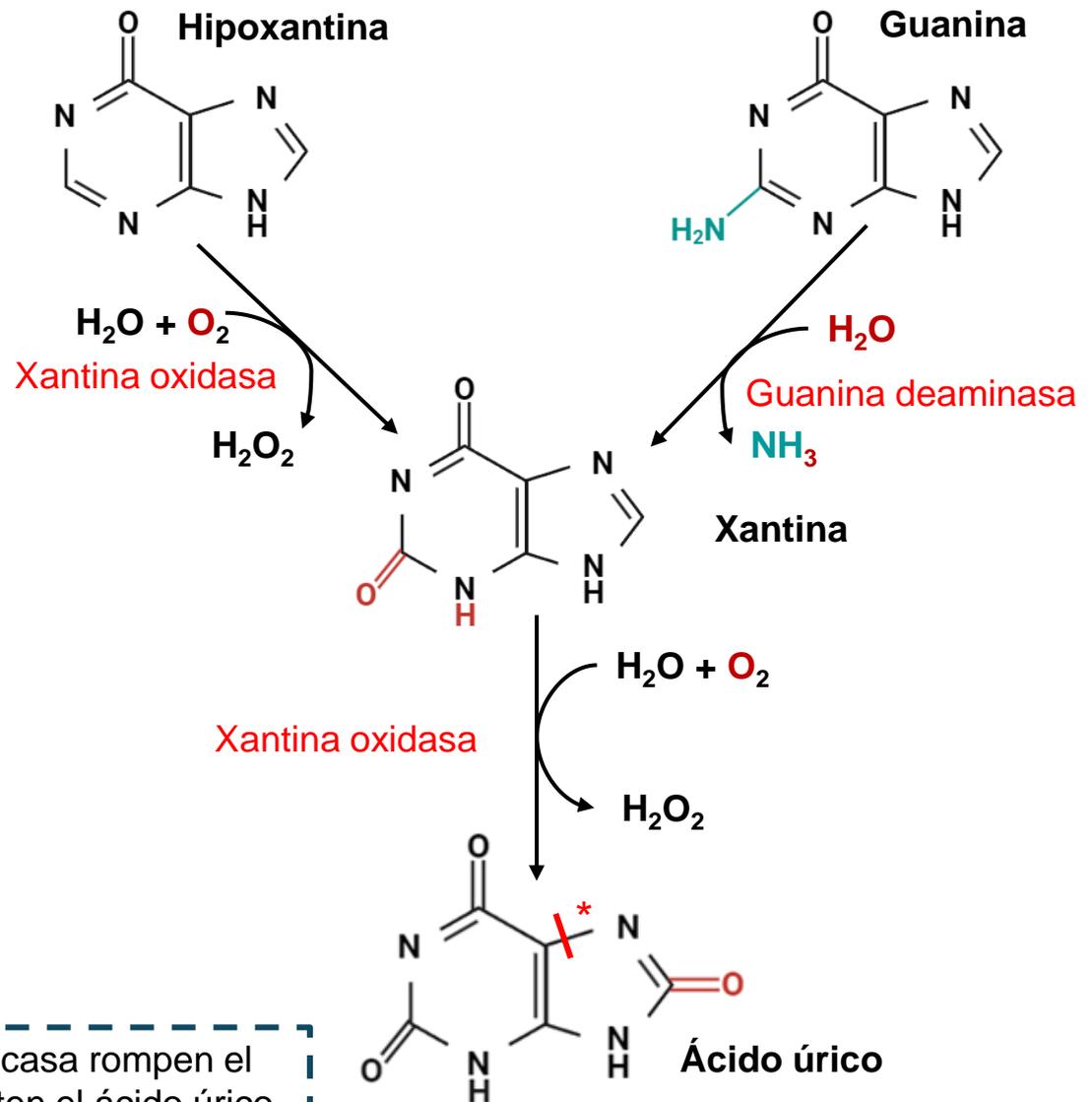
# La degradación de nucleótidos de purina produce ácido úrico.

La degradación de bases nitrogenadas púricas da lugar a **xantina**. La xantina se obtiene por **desaminación de la guanina** o por **oxidación de la inosina** (recordad que el AMP se desamina a IMP). El enzima que cataliza la oxidación de la hipoxantina es la Xantina oxidasa que genera peróxido de hidrógeno como subproducto.

Una **segunda oxidación** realizada por la xantina oxidasa produce **ácido úrico**. El ácido úrico es el antioxidante más importante en plasma.

La solubilidad del ácido úrico es limitada y cuando la concentración de ácido úrico sobrepasa su solubilidad se deposita en forma de cristales en las articulaciones dando lugar a una inflamación muy dolorosa (gota). La solubilidad es menor a baja temperatura: la precipitación tiene lugar en las extremidades de forma preferente.

\*:Las especies que producen uricasa rompen el anillo en esta posición y convierten el ácido úrico en alantoína (no sucede en primates).

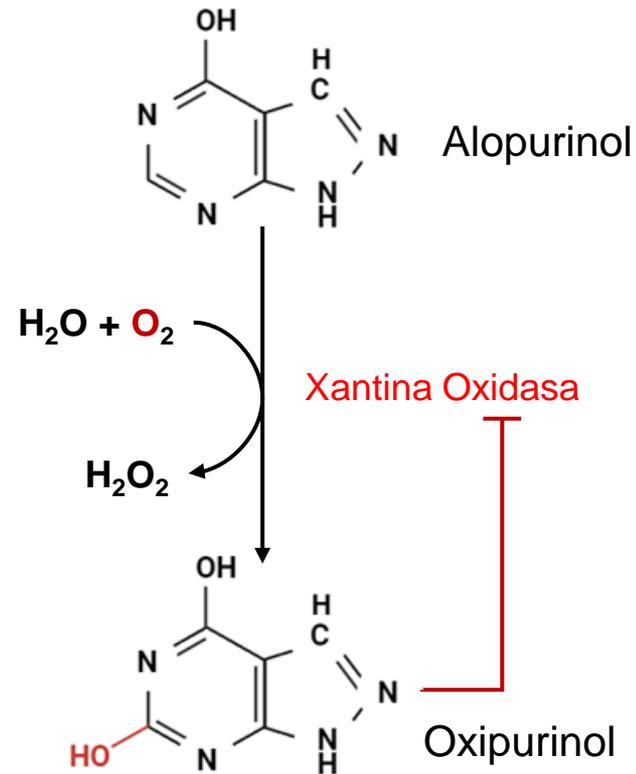


## El alopurinol inhibe la síntesis de ácido úrico

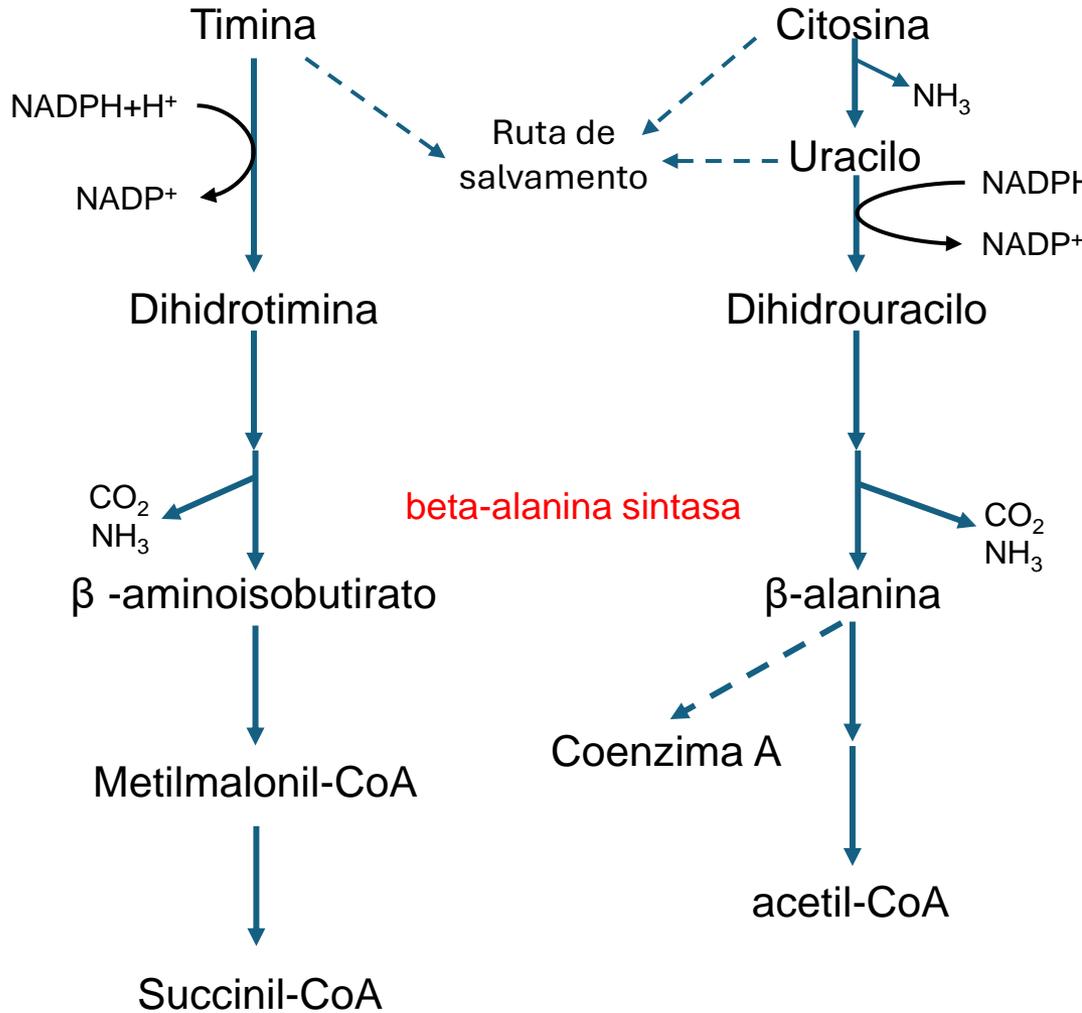
-El alopurinol es un inhibidor competitivo de la Xantina oxidasa. Se trata de un análogo de la hipoxantina.

-La xantina oxidasa convierte el alopurinol en oxipurinol. El oxipurinol tiene mucha afinidad por la xantina oxidasa, permaneciendo unido al centro activo del enzima.

-Se usa como tratamiento en gota o cálculos renales.



# Degradación de nucleótidos de pirimidina



La citosina, para ser degradada, tiene que ser convertida en uracilo vía desaminación.

La timina y el uracilo tienen rutas distintas de degradación, pero con pasos similares. En ambas el primer paso lo realiza una deshidrogenasa con gasto de NADPH. En ambas el último paso lo realiza el mismo enzima la beta-alanina sintasa. Esta enzima, una amidohidrolasa, con gasto de una molécula de agua genera dióxido de carbono, amoníaco y beta-alanina en el caso del uracilo y beta-aminoisobutirato en el caso de la timina.

La beta-alanina se puede degradar a acetil-CoA o emplearse para sintetizar ácido pantoténico (vit.B5) el precursor de la coenzima A.

El beta-aminoisobutirato también se produce en la degradación de la valina y, como hemos visto, se convierte a succinil-CoA para su integración en el ciclo de Krebs.

# Ruta de salvamento de nucleótidos de pirimidina

- En la ruta de salvamento de pirimidinas se reciclan las bases nitrogenadas. Es menos eficiente que la ruta de salvamento de purinas.
- El uracilo se recicla a uridina mediante la **Uridina fosforilasa (1)**, empleando ribosa 1-fosfato.
- La **citidina deaminasa (2)** convierte la citidina en uridina. La uridina es fosforilada a UMP y posteriormente puede ser fosforilada a UDP y UTP. La **CTP sintasa (3)** convierte el UTP en CTP. Hay una ruta alternativa por la que el uracilo se convierte en UMP empleando PRPP. Esta reacción está catalizada por la **Uracilo fosforribosiltransferasa (4)**.
- La timina se recicla mediante la conjugación a 2-deoxi-ribosa 1-fosfato por la **Timidina fosforilasa (5)**. Esto forma un deoxinucleósido que es fosforilado secuencialmente por la **timidina quinasa y la timidilato quinasa (6)**, formando TDP, el cual puede ser fosforilado a TMP por la quinasa de nucleótidos difosfato.

