

17  
28j



Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE QUIMICA

"INFLUENCIA DE IONES METALICOS EN LA ACTIVIDAD  
BACTERIOLOGICA DE LOS ANTIBIOTICOS"

TRABAJO MONOGRAFICO DE ACTUALIZACION

Que para obtener el Título de

QUIMICO

presenta

ROSA MARIA HERNANDEZ GARCIA



México, D. F.



EXAMENES PROFESIONALES  
FAC. DE QUIMICA

1987



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **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 está 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.

# INDICE

	página
ABREVIATURAS UTILIZADAS EN ESTE	
TRABAJO . . . . .	V
INTRODUCCION . . . . .	1
CAPITULO 1	
BREVE HISTORIA DE LOS ANTIBIOTICOS . . . . .	3
CAPITULO 2	
GENERALIDADES . . . . .	18
2.1 CLASIFICACION DE LOS ANTIBIOTICOS . . . . .	19
2.1.1 CLASIFICACION DE ACUERDO AL MECANISMO DE ACCION . . . . .	19
2.1.2 CLASIFICACION DE ACUERDO A LA ESTRUCTURA QUIMICA . . . . .	36
2.2 EFECTO DE LOS IONES METALICOS SOBRE LOS ANTIBIOTICOS . . . . .	56

### CAPITULO 3

INTERACCION DE IONES METALICOS CON POLIPEPTIDOS . . .	58
3.1 FARMACOLOGIA DE LOS POLIPEPTIDOS . . . . .	60
3.1.1 ABSORCION, METABOLISMO Y EXCRECION . . . . .	60
3.1.2 INDICACIONES TERAPEUTICAS . . . . .	62
3.1.3 EFECTOS SECUNDARIOS . . . . .	63
3.2 ESTUDIOS REALIZADOS SOBRE LA INTERACCION DE IONES METALICOS CON POLIPEPTIDOS . . . . .	65
3.2.1 INTERACCION DE IONES METALICOS CON BACITRACINA . . . . .	66
3.2.2 INTERACCION DE IONES METALICOS CON GRAMICIDINA A . . . . .	72
3.2.3 INTERACCION DE IONES METALICOS CON POLIMIXINAS . . . . .	78
RESUMEN . . . . .	79

### CAPITULO 4

INTERACCION DE IONES METALICOS CON TETRACICLINAS . .	83
4.1 FARMACOLOGIA DE LAS TETRACICLINAS . . . . .	87
4.1.1 ABSORCION, METABOLISMO Y EXCRECION . . . . .	87
4.1.2 INDICACIONES TERAPEUTICAS . . . . .	93
4.1.3 EFECTOS SECUNDARIOS . . . . .	95

4.2 ESTUDIOS REALIZADOS SOBRE LA INTERACCION	
DE IONES METALICOS CON LAS TETRACICLINAS . . . . .	96
4.2.1 ESTUDIOS CLINICOS . . . . .	96
4.2.2 ESTUDIOS QUIMICOS . . . . .	103
RESUMEN . . . . .	122

## CAPITULO 5

### INTERACCION DE IONES METALICOS CON

OTROS ANTIBIOTICOS . . . . .	125
5.1 INTERACCION DE IONES METALICOS CON	
BLEOMICINA . . . . .	126
5.1.1 FARMACOLOGIA DE LA BLEOMICINA . . . . .	128
5.1.2 ESTUDIOS REALIZADOS SOBRE LA INTERACCION	
DE IONES METALICOS CON LA BLEOMICINA . . . . .	130
RESUMEN . . . . .	147
5.2 INTERACCION DE IONES METALICOS CON	
EL ACIDO NALIDIXICO Y SUS ANALOGOS . . . . .	149
5.2.1 FARMACOLOGIA DEL ACIDO NALIDIXICO	
Y SUS ANALOGOS . . . . .	151
5.2.2 ESTUDIOS REALIZADOS SOBRE LA INTERACCION	
DE IONES METALICOS CON EL ACIDO NALIDIXICO	
Y SUS ANALOGOS . . . . .	155
RESUMEN . . . . .	162
COMENTARIOS . . . . .	164

BIBLIOGRAFIA . . . . . 169

## ABREVIATURAS UTILIZADAS EN ESTE TRABAJO

A	adenina
Å	angstrom
a.C.	antes de Cristo
Ala	alanina
Asn	asparagina
Asp	ácido aspártico
BcIO	iodosobenceno
BLM	bleomicina
°C	grado Celsius
Cap.	capítulo
Cont.	continuación
CTC	clortetraciclina
DC	dicroísmo circular
DEM	demeclociclina
dm <sup>3</sup>	decimetro cúbico
DNA	ácido desoxirribonucleico
DOX	doxiciclina
Fen	fenilalanina
Fig.	figura
G	guanina
GA	gramicidina A
Gli	glicina

Glu	ácido glutámico
HCNX	cinoxacina
His	histidina
HNAL	ácido nalidíxico
Ile	isoleucina
L	ligante
Leu	leucina
M	metal
MIN	minociclina
Orn	ornitina
OTC	oxitetraciclina
PG	picogramo
Pro	prolina
RMN	resonancia magnética nuclear
RNA	ácido ribonucleico
mRNA	RNA mensajero
rRNA	RNA ribosomal
tRNA	RNA de transferencia
RPE	resonancia paramagnética del electrón
Sec.	sección
T	timina
TC	tetraciclina
Trp	triptofano
$t_{1/2}$	tiempo de vida media

U

uracilo

u.m.a.

unidades de masa atómica

%

porcentaje

## INTRODUCCION

Los antibióticos son probablemente una de las contribuciones más importantes de fármacos en la pasada mitad del siglo XX, un periodo que se caracteriza por avances sin precedentes. Este grupo de fármacos proporcionan un control efectivo sobre un gran número de microorganismos patógenos, que en tiempos pasados le causaron incapacitación prolongada o muerte al hombre. Actualmente a la mayoría de las personas se les ha administrado alguna vez algún antibiótico para ayudar a combatir algunos tipos de faringitis, amigdalitis, bronquitis, neumonía bacteriana, tuberculosis o alguna otra enfermedad bacteriana; por lo que, si los antibióticos han llegado a constituir una parte tan importante de nuestra vida, es de sumo interés el conocer que son, como actúan y los progresos realizados en este campo. De los estudios efectuados para conocer y mejorar la función y la calidad de los antibióticos, uno es en el área de la química bioinorgánica; que consiste, en analizar los resultados obtenidos del estudio de la interacción de iones metálicos con sustancias antibióticas.

Este trabajo tiene como objetivo el recopilar los

estudios realizados en esta área; pero dada la amplitud del tema no se pretende que sea exhaustiva, pues no es posible el abarcar toda la información existente, sino tan solo aquellos estudios más relevantes. Este trabajo incluye estudios realizados con antibióticos polipeptídicos y tetraciclinas, así como con bleomicina (utilizada como antineoplásico) y la familia del ácido nalidíxico (antibiótico sintético), por considerarlos de interés dentro de este campo.

## CAPITULO 1

### BREVE HISTORIA DE LOS ANTIBIOTICOS

Las terribles y contagiosas infecciones que en tiempos pasados privaron al mundo de muchas vidas valiosas, hoy en día se curan con facilidad e incluso se han erradicado, gracias a la aparición y el uso de los antibióticos.

Los antibióticos se conocían de manera empírica desde 1500 años a.C. En la antigüedad<sup>(1-4)</sup> en los papiros médicos egipcios se menciona la utilización de más de mil clases de tierras con propiedades medicinales y se recomiendan distintas especies de mohos contra las infecciones urinarias, y los tallos podridos de loto contra los tumores. Entre los egipcios se utilizaron alimentos como cebollas y rabanos con los que se sabe, alimentaban a los esclavos que construyeron las pirámides y de los que en algún tiempo se originaron los antibióticos allistatina y rafanina. Los chinos aplicaban hongos a los carbuncos (Antrax o Pústula maligna, que es una enfermedad virulenta y contagiosa causada por la bacteria Bacillus anthracis, que padecen los animales, especialmente los rumiantes y puede ser transmitida al hombre de modo directo o indirectamente por sus produc-

tos: lana, pieles, cerdas, etcétera. Se adquiere a través de la piel por una herida). Muchas tribus primitivas confían tierra como remedio; y los Incas consideraban que el lodo denominado chaco era una medicina útil para las infecciones gastrointestinales.

John Parkinson en el año 1640 publicó un tratado - "Theatrum Botanicum" en donde menciona un unguento hecho del "musgo de las calaveras"; y 50 años después en la obra del médico alemán Christian Paullini "Dreck-Appotheke", se describen las cualidades curativas de distintas clases de moho aconsejando a la vez a sus colegas - que no rechazaran sus repugnantes remedios.

En el siglo XIX numerosos hombres de ciencia suponían que podría existir cierta rivalidad entre los microbios, y sugerían la posibilidad de aprovecharla para curar enfermedades. Joseph Lister escribió en el Commanplace Book el 28 de noviembre de 1871, que en presencia de un cultivo profuso de Penicillium las bacterias "se mostraban en un estado de languidez total y multitudes permanecían completamente inmóviles". En 1874, -- William Roberts presentó un informe a la Royal Society, en el que mencionaba la imposibilidad de cultivar bacterias en un caldo con abundancia de Penicillium glaucum.

Pasteur y Joubert en el año de 1877, observaron -

que cuando inyectaban el bacilo del ántrax en animales, al mismo tiempo que determinadas bacterias aerobias, no se producía infección; a partir de esto Pasteur escribió: "En los organismos inferiores, en mayor medida aún que en las especies animales y vegetales superiores, la vida obstaculiza la vida. Un líquido invadido por un fermento organizado o por un aerobio, dificulta la multiplicación de los microorganismos inferiores".

Victor Babes descubrió el Piroplasma hoy llamado Babesia, género causante de la fiebre del ganado de Texas, y a su vez demostró que una sustancia difundida de un microbio podía inhibir el desarrollo de otro. -- Hjalmar Schibtz de nacionalidad noruega, recurrió a la pulverización de estafilococos para tratar de esterilizar la garganta de los portadores de difteria, ante el descubrimiento de que una sustancia derivada del Staphylococcus aureus combate eficazmente al Corynebacterium diphtheriae, causante de la difteria.

A principios del siglo XX, un grupo de investigadores alemanes concentró una sustancia llamada piocianasa, derivada del Pseudomonas pyocyaneus; al mismo tiempo dos científicos rusos ensalzaron las virtudes de las aplicaciones locales de esta sustancia para combatir el tifus y el colera, pero dicha sustancia resultó tan tóxica para el hombre como para los microorganismos cau

santes de las infecciones, que no se pudo aplicar.

Un médico militar francés llamado Ernest-Augustin Duchesne publicó en el año de 1897 una tesis titulada - "Contribution a l'étude de la concurrence vitale chez - les micro-organismes. Antagonisme entre les moisissures et les microbes"; en la cual explicaba la acción anti bacteriana de los hifomicetos y demostró experimentalmente que los cultivos de Penicillium glaucum disminuyen la virulencia de microorganismos patógenos tales como Escherichia coli o Salmonella typhosa. En esta época tales fenómenos se les denominaba "Antibiosis".

En el año de 1928 el Dr. Alexander Fleming, descubrió la penicilina, hecho que abrió las puertas a un nuevo campo para el tratamiento de las infecciones. Fleming trabajaba en el Hospital de St. Mary en Londres bajo la dirección del patólogo e inmunólogo Dr. Almroth Wright, quien estaba convencido de que el verdadero método de combatir una enfermedad infecciosa consistía en fortalecer las defensas naturales del cuerpo por medio de la inmunización. Unos años antes, Fleming había descubierto una substancia antibacteriana natural en las lagrimas y la saliva, a la que llamó "lisozima", y trató infructuosamente de aumentar su concentración en la sangre con fines terapéuticos y experimentales. En el otoño de 1928 Fleming

estaba dedicado al estudio de diversas variedades de estafilococos, ya que se había comprometido a colaborar con un artículo sobre los mismos en la obra "A System of Bacteriology" que publicaría en el consejo de Investigación Médica. Merlin Pryce, bacteriólogo también, recordaba cierto día en que visitó a Fleming en su desordenado laboratorio, como este se quejaba de que los cultivos de las cajas de Petri se contaminaban mientras los examinaba al microscopio y decía: "Tan pronto se destapa una placa ocurre indefectiblemente algo fastidioso. Hay cosas que caen del aire".

Un día al comenzar Fleming sus tareas en el laboratorio advirtió que en una de las cajas de Petri los cultivos de las colonias se habían disuelto hasta formar algo parecido a gotas de agua, y en lugar de convertirse en moho amarillento característico de los estafilococos, habían desaparecido. Pryce y muchos otros bacteriólogos habían observado a menudo que algunos cultivos de hongos parecían disolverse, también Fleming lo había notado; pero en esta ocasión pasó parte del moho a un tubo de ensaye con caldo de cultivo y aparto la caja de Petri para examinarla posteriormente con mayor detalle. Tras de estudiar numerosos tratados de microbiología, Fleming pensó que el misterioso hongo que había detenido aquellos microbios podría ser un Penicillium del gé-

nero chysogenum. C.J. La Touche, joven micólogo irlandés, lo identificó como Penicillium rubrum, bajo cuyo nombre se conoció durante dos años aproximadamente; hasta que el micólogo norteamericano Thom lo identificó correctamente como Penicillium notatum. El 12 de febrero de 1929, ante el Club de Investigación Médica de Londres, Fleming hizo público su estudio acerca del descubrimiento de una substancia que denominó penicilina.

Durante la década siguiente, varios químicos trataron de purificar y concentrar la penicilina, pero la solución se les escapaba invariablemente. Sin embargo en 1935 la antibiosis se vio relegada a un segundo término debido al descubrimiento de Gerhard Domagk, la primera sulfonamida a la que denominó prontosil. Motivo por el que Fleming trató incansablemente de interesar a los químicos en su penicilina, pero estos no querían oír hablar del tema, o bien lo rechazaban porque la penicilina era considerada demasiado inestable. El interés por esta renació solo hasta 1939, Cuando Ernst Boris Chain bioquímico de origen alemán, empezó a trabajar con el Dr. Howard Florey patólogo australiano, en la Escuela Sir William Dunn de Oxford. Subsidiado por el Instituto Rockefeller, este equipo, al cual empezaba a conocerse como el equipo de Oxford, trató el hongo con azúcar moreno y con pequeñas cantidades de sulfato

de manganeso y cinc logrando extraer la penicilina mediante el método de desecación por congelación, y después de varios meses de trabajo se obtuvo una diminuta cantidad de polvo impuro de color castaño tan potente - que una porción infinitesimal bastaba para impedir el desarrollo de la bacteria.

El 12 de febrero de 1941 el nuevo antibiótico fue sometido a la primera experimentación clínica: se le inyectó en un brazo a un policia británico llamado Albert Alexander, que se había arañado la comisura de los labios mientras podaba unos rosales, contrayendo de esta manera septicemia grave ("Sepsis generalizada", enfermedad en la que por el fracaso de la barrera defensiva -- que circunscribe un proceso inflamatorio bacteriano sobreviene la difusión y la extensión por todo el organismo. Es necesario que el germen causante o sus toxinas pasen al torrente sanguíneo y aniden en este medio, llamándose según el caso bacteremia o toxemia respectivamente, pero también hace falta un foco séptico localizado que mantenga dicha invasión. Es característico que los síntomas de la generalización predominen mientras que las manifestaciones clínicas del foco ocupan un segundo plano en reacciones muy difíciles de localizar. Practicamente cualquier bacteria es capaz - de provocar septicemia y, de hecho, cualquier infección

produce un cuadro clínico general que demuestra la invasión sanguínea por el microorganismo o sus toxinas, pero clínicamente se reserva el término septicemia para enfermedades producidas por estafilococos y estreptococos en las que los síntomas se producen por una continua contaminación interna. Ejemplos de septicemias son la fiebre puerperal y la endocarditis lenta). Albert - Alexander tenía el cuerpo cubierto de llagas, había perdido un ojo y tenía el otro lleno de pus. Veinticuatro horas después de la primera inyección una de las úlceras del cuero cabelludo comenzó a secarse, y cinco días más tarde el paciente podía incorporarse en la cama; sin embargo, las reservas del fármaco se agotaron y - Albert Alexander murió.

Fue así como Chain y Florey establecieron las propiedades y la aplicación terapéutica de la penicilina. Pero para ese entonces Inglaterra se encontraba en guerra y la preocupación principal de la industria era el armamento, motivo por el cual los doctores Florey y Chain se trasladaron a Nueva York con muestras de la penicilina original y con sus conocimientos; persuadiendo a los especialistas en fermentaciones del centro de investigación de hongos de Peoria, Illinois, de que cultivaran el hongo Penicillium notatum, y así -

fue como lograron, gracias a los esfuerzos del Dr. Alfred Newton Richards de la Universidad de Pensilvania, el apoyo del gobierno para la elaboración de penicilina a gran escala por compañías de productos farmacéuticos. (En el año de 1945, Sir Alexander Fleming, Sir Howard W. Florey y Ernst Boris Chain fueron galardonados con el Premio Nobel de Medicina y Fisiología).

Tras numerosas investigaciones, como son las variaciones de los medios de cultivo, las mutaciones mediante radiaciones con rayos X y luz ultravioleta, se llegó a mutantes que producían un rendimiento abundante; esto se logró hasta 1944. Durante la guerra se trató de sintetizar el compuesto inutilmente y no fue hasta el año de 1950 cuando John Sheehan, investigador del Instituto Tecnológico de Massachusetts, y dos bioquímicos británicos, descubrieron la fórmula de la molécula de penicilina (Fig. 1.1). En la actualidad se han creado más de 2,000 clases distintas de penicilina, agregando diversas cadenas laterales al núcleo de la molécula, el ácido 6-aminopenicilánico.

En la década 1930-1940 mientras el cultivo de Fleming se enmohecía; René Dubos, biólogo de origen francés, se dedicaba en el Instituto Rockefeller a mezclar varias muestras de humus con diversos elementos patóge-

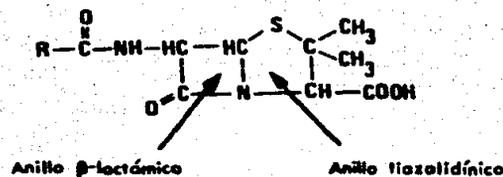


Fig. 1.1 Acido 6-aminopenicilánico, nucleo básico de las penicilinas.

nos; logrando finalmente aislar de un microorganismo es perífero (Bacillus brevis) una sustancia denominada ti rotricina, que más tarde se descompuso en otras dos: -- gramacidina A y tirocidina (Fig. 1.2). Los estudios de mostraron que, esta sustancia, la tirotricina en un mi lésimo de gramo podía exterminar mil millones de neumo-cocos; sin embargo, también destruía los hematíes y era perjudicial para el hígado y los riñones.

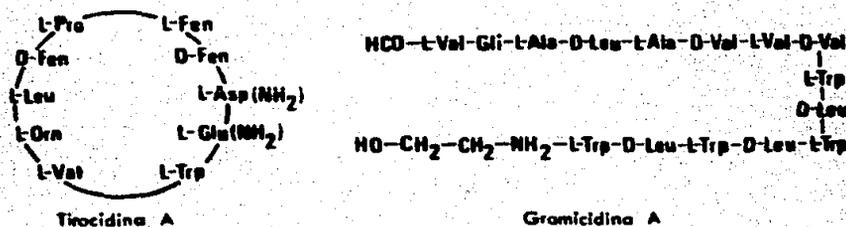
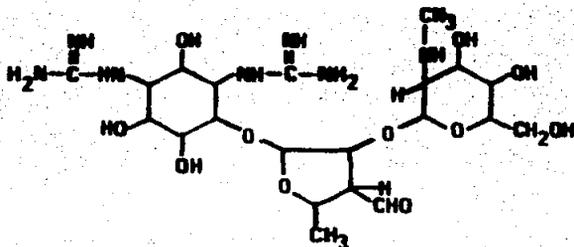


Fig. 1.2 La tirotricina es una mezcla de aproximadamente un 20% de gramacidina A y un 60% de tirocidina.

En la Universidad de Rutgers, Selman Waksman, a -- quien se debe gran parte del éxito en el descubrimiento de nuevos organismos productores de antibióticos; analizo junto con sus colaboradores más de cien mil especies de microbios del humus, hasta que, con la ayuda de Al-- bert Schatz, logró en 1943 aislar la estreptomina --- (Fig. 1.3) de los actinomicetos (Streptomyces gryseus) descritos por el 28 años antes. La estreptomina a diferencia de la penicilina atacaba las bacterias gramne-- gativas, y era por tanto el primer producto eficaz para el tratamiento de la tuberculosis. Selman Waksman fue quien también bautizó las nuevas sustancias con el nom-- bre de "antibióticos". Hoy en día se producen comer--- cialmente cerca de treinta diferentes antibióticos obte-- nidos de diversos actinomicetos y muchísimos más han si-- do descartados por diversas razones que de un modo u -- otro hacen imposible su empleo.



[Fig. 1.3 Estreptomina

En la búsqueda de nuevos antibióticos hay una innu-  
 merable lista de investigadores y de sustancias, de --  
 las cuales muchas por alguna razón han quedado fuera de  
 uso. Entre estos investigadores destaca el Dr. Benja--  
 min Duggar, quien examinó treinta mil especies de hon--  
 gos, descubrió 3,400 que mostraban actividad de algún -  
 género y en 1948, aisló de la especie Streptomyces au--  
reofaciens la clortetraciclina (Fig. 1.4a), de amplio -  
 espectro. En 1950 se aisló de la especie Streptomyces  
rimosus la oxitetraciclina (Fig. 1.4b) y, en 1953, de -  
 la mezcla antibiótica producida por S. aureofaciens la  
 tetraciclina (Fig. 1.4c).

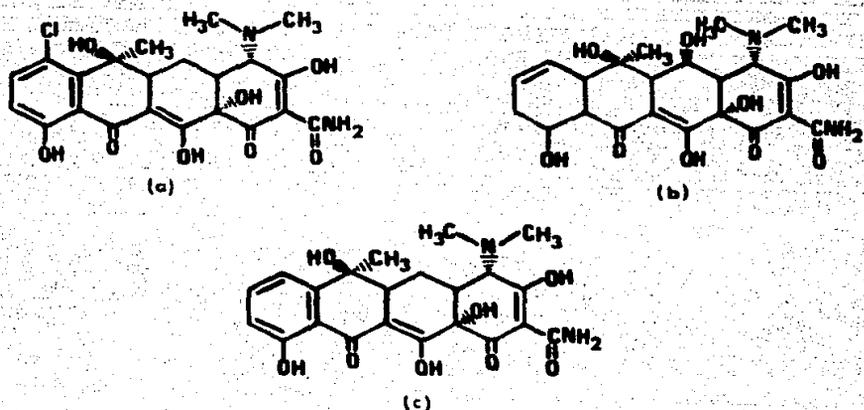


Fig. 1.4 (a) Clortetraciclina. (b) Oxitetraci-  
 clina. (c) Tetraciclina.

Durante la Segunda Guerra Mundial, se recogieron - muestras de tierra de todo el mundo en busca de nuevas sustancias antibacterianas. En la Universidad de Yale, de una muestra procedente de Venezuela, el microbiólogo Paul R. Burkholder aisló del actinomiceto Streptomyces venezuelae la cloromicetina (cloramfenicol) (Fig. 1.5). En 1952, de una tierra traída de Filipinas, se aisló de Streptomyces erythreus la eritromicina (Fig. 1.6).

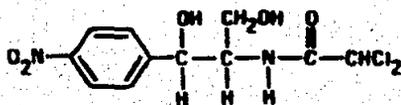


Fig. 1.5 Cloromicetina.

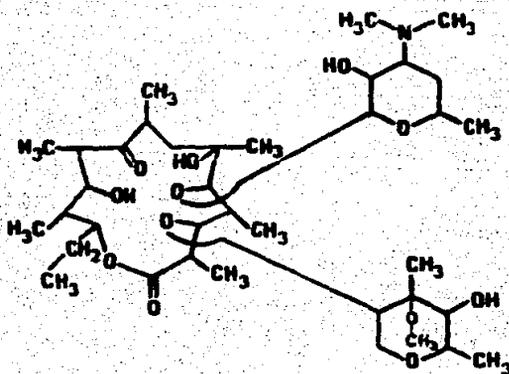


Fig. 1.6 Eritromicina.

Posteriormente se encontró, en el tejido que circundaba la tibia fracturada de una niña llamada Margaret Tracy, un microbio (Bacillus subtilis) del cual se aisló la bacitracina (Fig. 1.7).

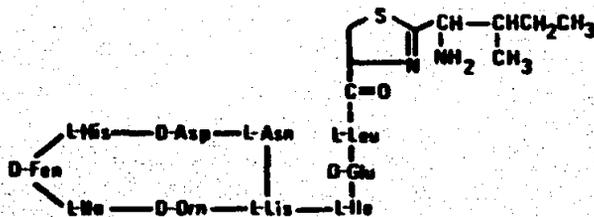


Fig. 1.7 Bacitracina A, principal constituyente de la bacitracina.

Los estudios continuaron y, mientras los bioquímicos producían nuevas sustancias antibacterianas o modificaban las ya existentes, los bacteriólogos y clínicos probaban su actividad en todo tipo de microbios "in vitro" así como en infecciones comprobando su utilidad para combatir la endocarditis bacteriana, tuberculosis, fiebre tifoidea, tifus, peste, disenteria bacilar, así como otros padecimientos infecciosos.

El uso de los antibióticos modificó en muchos aspectos la práctica médica, pues el tratamiento con sustancias antibacterianas redujo el índice de mortalidad por enfermedades infecciosas y contribuyó en gran medi-

de al aumento de la longevidad. Pero a medida que los pacientes iban conociendo la existencia de nuevos farmacos antibacterianos, muchos de ellos, llegaron a exigir las para combatir dolencias sin importancia; al grado de que se llegó a emplear la cloromicetina como laxante. Como el uso indiscriminado podría aumentar la sensibilidad de los pacientes, la resistencia de las bacterias y también mermar la capacidad de diagnóstico y tratamiento médico; el Dr. Allen E. Hussor propuso que se llevara a cabo una campaña en pro del uso racional de los antibióticos.

A partir de 1940, se han descrito un gran número de antibióticos y las investigaciones en este campo se han prolongado continuamente. Debido al enorme desarrollo de éstos medicamentos, actualmente se conocen al rededor de 4,000, disponiendose de una gran variedad de farmacos antibacterianos que permiten tratar, con mayor o menor eficacia, casi todas las enfermedades infectiosas. Su uso se ha extendido desde la medicina humana y veterinaria, hasta la agricultura.

## CAPITULO 2

### GENERALIDADES

Fundamentalmente, la mayoría de las personas tienen un concepto general de la palabra antibiótico, pero en el área de los antibióticos, se encuentra dificultad en dar una definición precisa; ya que en ella se reflejan diversos conceptos científicos, debido a la gran variedad de disciplinas estrechamente ligadas a este campo dando lugar a distintos puntos de vista.

A fines del siglo pasado a los fenómenos de la acción antagonista entre los mohos y los microbios se les llamaba "antibiosis", término que literalmente significa "contra vida" (anti-contra, bios-vida) y del cual se deriva la palabra antibiótico.

La definición formal de antibiótico<sup>(2-6)</sup> restringe el uso del término a las sustancias químicas que son producidas por microorganismos y tienen la capacidad de inhibir el crecimiento o de destruir a las bacterias o a otros microorganismos. Esta definición distingue entre las sustancias producidas por los microorganismos y los compuestos sintetizados por los químicos (ácido nalidixico, sulfonamidas, trimetoprim, isoniazida). Es

ta distinción es más bien académica, ya que la palabra antibiótico es frecuentemente usada para designar ambos grupos de agentes antimicrobianos.

En esta recopilación, básicamente se tratará información sobre antibióticos naturales y se mencionaran algunos ejemplos de los antibióticos sintéticos.

## 2.1 CLASIFICACION DE LOS ANTIBIOTICOS

Los antibióticos pueden ser clasificados en diferentes formas<sup>(3)</sup> para su catalogación, sin embargo las dos más aceptadas son de acuerdo a el mecanismo de acción y a la estructura química.

### 2.1.1 CLASIFICACION DE ACUERDO AL MECANISMO DE ACCION

Se tiene el conocimiento de cuatro modos generales de acción<sup>(2-6)</sup>:

- i. Inhibición de la biosíntesis de la pared celular.
- ii. Inhibición de la síntesis proteica.
- iii. Alteración del metabolismo del ácido desoxirribonucleico.
- iv. Alteración en la función de la membrana celular.

## i. Inhibición de la biosíntesis de la pared celular.

Consiste en la inhibición o ruptura de la biosíntesis de mucopéptido, dado que las mucoproteínas o mucopéptidos son proteínas estructurales que conforman la estructura de la pared celular, de una célula procariótica.

Las células grampositivas y gramnegativas poseen diferencias estructurales en sus paredes celulares (5), aun cuando la composición química de estos es muy similar. Las células grampositivas poseen una pared celular que consiste en una capa relativamente espesa de mucopéptidos, en cambio no así la pared celular gramnegativa que tiene una estructura pluriestratificada y muy compleja, y la capa mucopeptídica que contiene es muy delgada (Fig. 2.1).

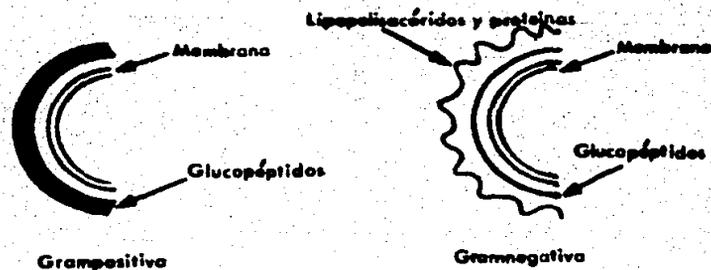


Fig. 2.1 Comparación de la pared celular de bacterias grampositivas y gramnegativas.

La capa mucopeptídica es conocida como mureína, glucopéptido o peptidoglucano, y a causa de la naturaleza de su estructura química, esta es fibrosa y dura. La mureína o mucopéptido, que es el esqueleto de la pared celular<sup>(5,7,8)</sup>, es un heteropolímero formado por cadenas rectas en las que alternan la N-acetilglucosamina y el ácido N-acetilmurámico unidos por enlaces glucosídicos  $\beta(1 \rightarrow 4)$ , y también por los aminoácidos L-alanina, D-alanina, ácido D-glutámico y/o L-lisina, L-hidroxilisina, ácido meso-diaminopimélico o bien ornitina --- (Fig. 2.2), dependiendo de la especie bacteriana.

Dado que la membrana celular no es lo bastante fuerte, la pared celular que la rodea como una molécula entrecruzada continua, es la cual, con la capa mucopeptídica que contiene, actúa como una malla rígida para mantener un gradiente de presión osmótica entre bacteria y medio ambiente. Al inhibirse la biosíntesis de mucopéptido, no se forma la mencionada capa o malla resistente. Mientras tanto en la superficie de la pared celular la continua actividad de las enzimas bacterianas, autolisinas, llevan a un rompimiento de la pared celular que previamente se sintetizó; dando lugar a que en los puntos debiles de la pared celular la membrana celular sobresalga y finalmente se rompa ocasionando un

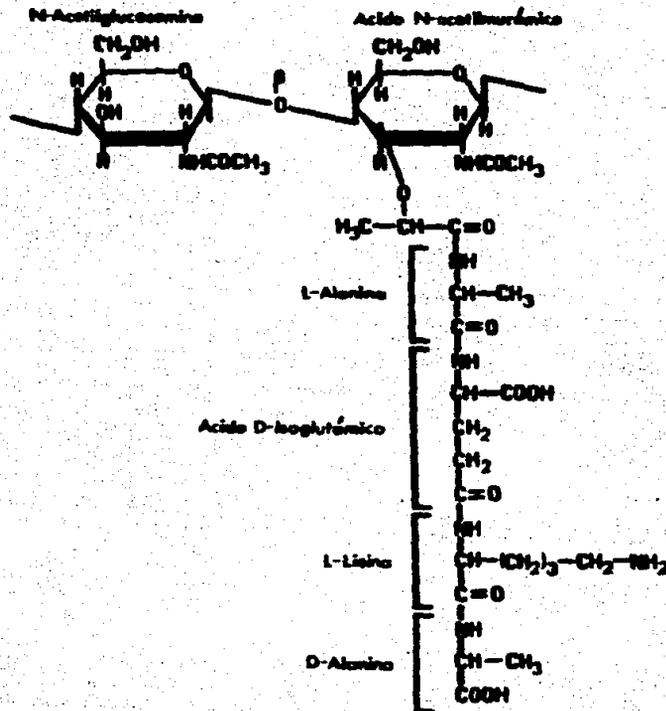


Fig. 2.2 Mucopéptido repetido de las paredes celulares bacterianas.

trauma osmótico o lisis a la bacteria, por lo que el microorganismo muere.

La síntesis de mucopéptidos puede dividirse en tres distintos pasos, que son los niveles a los cuales actúan los antibióticos que se encuentran dentro de esta clasificación.

1o. En el interior de la célula microbiana, se llevan a cabo una serie de reacciones, que es la formación de la estructura básica unitaria o unidad fundamental - de la pared celular, la uridín-difosfo-N-acetilmuramyl-pentapéptido. A este nivel actúa la cicloserina.

2o. La unidad básica es transportada al exterior - de la membrana celular, en este proceso, las unidades básicas son unidas covalentemente a la pared celular preexistente. A este nivel actúan la bacitracina y la vancomicina.

3o. Ocurre fuera de la membrana celular, es la formación en la pared celular de una envoltura altamente - entrecruzada y resistente. Esta última reacción es catalizada por una transpeptidasa la cual divide los residuos terminales D-alanina de los pentapéptidos de la -- unidad estructural básica y forma una unión peptídica - entre la glicina terminal de un puente pentaglicina y - la penúltima D-alanina de otra cadena de mucopéptido. - Esto es que cada enlace de la banda de polipéptido de - cada unidad estructural (repetitiva) convierte enlaces de la banda en covalentes, enlazandolos a la próxima cadena mucopéptida. Aun cuando los mecanismos no se conocen con exactitud; se supone que las moléculas del anti biótico inhibidor, ocupan los sitios del sustrato D-ala

nil-D-alanina de la transpeptidasa e inactivan a la enzima irreversiblemente. En este paso inhiben las penicilinas y las cefalosporinas.<sup>(2,6)</sup>

## ii. Inhibición de la síntesis proteica.

La biosíntesis de una proteína esencial puede ser bloqueada en cualquiera de sus fases básicas, pero los antibióticos (terapéuticamente útiles) que inhiben la biosíntesis de proteínas<sup>(2,6)</sup>, en su mayoría inhiben el proceso de la traducción del RNA mensajero (mRNA); o sea que de alguna manera influyen en el ensamble normal de los aminoácidos que constituyen las proteínas en la superficie del complejo mRNA-ribosoma.

La traducción tiene lugar en los ribosomas, los que en bacterias tienen un coeficiente de sedimentación de 70S compuestos de dos partículas de diferente tamaño o subunidades ribonucleoproteicas, cuyos coeficientes de sedimentación son de 50S y 30S. La subunidad más pequeña contiene RNA ribosomal (rRNA) de 16S y aproximadamente 20 proteínas y la subunidad mayor contiene así mismo rRNA de 5S y 23S y más de 30 proteínas.

El proceso de traducción es considerado en cuatro pasos: activación, iniciación, elongación o prolonga---

ción de la cadena y terminación.

1o. Activación. En esta primera etapa producida en el citoplasma, a partir de un aminoácido, ATP y RNA de transferencia (tRNA) mediante la enzima aminoacil-tRNA-sintetasa se forma el complejo aminoacil-tRNA; también interviene una pirofosfatasa que cataliza la hidrólisis del pirofosfato inorgánico. Esto es, que los aminoácidos son convertidos en complejos aminoacil-tRNA mediante procesos enzimáticos, lo cual se resume en la siguiente reacción:



2o. Iniciación o formación del complejo de iniciación 70S. Primeramente hay una disociación del ribosoma 70S en las subunidades 30S y 50S mediante el factor de iniciación ( $\text{IF}_3$ ) que es una proteína soluble. La subunidad ribosomal 30S libre se une al mRNA formando el complejo 30S-mRNA-ribosómico, y este se une luego al tRNA que tiene el aminoácido N-terminal, formilmetionina (fMet) en las bacterias; reconociendo el codón de iniciación AUG en presencia de GTP y de los factores de iniciación  $\text{IF}_1$  e  $\text{IF}_2$ . Después, el complejo formado, el 30S-mRNA-fMet-tRNA se une a la subunidad 50S mediante la acción de GTP, se liberan los factores de iniciación y el nucleósido de guanosina formando el complejo

de iniciación 70S-mRNA-fMet-tRNA (Fig. 2.3).

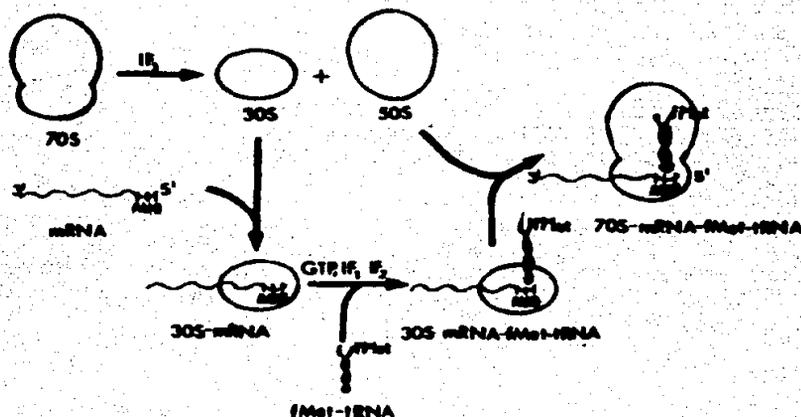


Fig. 2.3 Formación del complejo de iniciación 70S-mRNA-fMet-tRNA en bacterias.

3o. Elongación o prolongación de la cadena. Este paso se inicia con la adición al sitio aceptor A ribosómico (Fig. 2.4) de un segundo aminoacil-tRNA, con la participación de GTP y dos factores de elongación EF-T<sub>1</sub> y EF-T<sub>2</sub>. Los dos primeros tRNA se orientan, con los extremos anticodón opuestos a sus respectivos tripletes del código genético sobre el mRNA y con los aminoácidos sobre la superficie de la subunidad 50S del ribosoma, juntos uno a otro. Luego mediante la enzima peptidil-transferasa, se unen ambos aminoácidos. Para finalizar la elongación se lleva a cabo la translocación, durante

la cual es liberado desde el sitio P (Fig. 2.4) el fragmento de tRNA para la formilmetionina, entonces el tRNA con el dipéptido se mueve del sitio A al sitio P y así la subunidad 30S del ribosoma se mueve a lo largo del mRNA (un codón); todo mediante la presencia de el factor de elongación G (EF-G) y la hidrólisis de GTP. De esta forma al quedar libre el sitio A, este puede aceptar otro aminoacil-tRNA indicado por el siguiente triplete en el mRNA. El proceso de elongación continua de forma similar hasta que la cadena proteica esta completa (Fig. 2.4).

4o. Terminación. La cadena de proteína esta completa cuando existe una secuencia terminal de aminoácidos correspondientes a un codón UAG, UAA o UGA en el mRNA. Al aparecer alguno de estos codones o tripletes ya no se fija ningún otro aminoacil-tRNA, sino que los ribosomas fijan en su lugar una proteína reconocedora del codón terminador llamada factor de liberación, la cual activa la peptidil transferasa y esta a su vez hidroliza el eslabón que une la proteína al tRNA en el sitio P. Posteriormente el tRNA desacetilado es liberado del sitio P y el mRNA es desprendido del ribosoma.

Dentro del grupo de antibióticos inhibidores de la síntesis proteica, existen dos clases de fármacos según

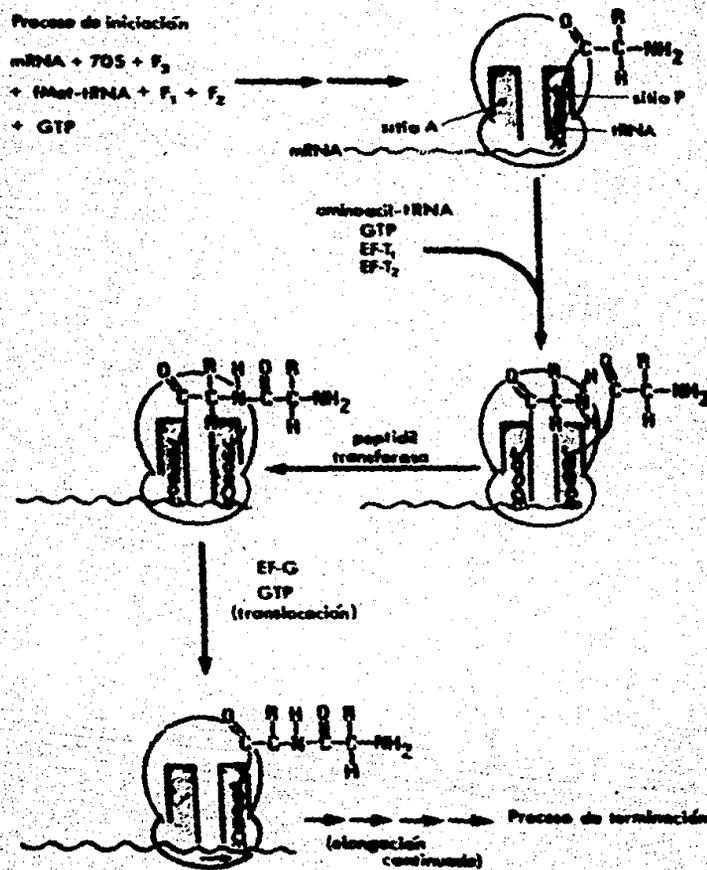


Fig. 2.4 Esquema de el proceso de elongación.

el efecto que causan sobre las células microbianas, anti-  
 bióticos bactericidas y bacteriostáticos.<sup>(6)</sup>

### Antibióticos bactericidas

Son aquellos que causan la muerte y la desintegración o lisis de las células microbianas. Se fijan a la subunidad 30S del ribosoma e inhiben la síntesis de proteínas causando error en la lectura del código genético. Es probable que existan ligeras diferencias entre los mecanismos de acción de los antibióticos pertenecientes a este grupo, en la manera de como interactúan con el sitio receptor del ribosoma. Ejemplos de estos antibióticos son: estreptomycin, gentamicina, kanamicina, neomicina y tobramicina.

### Antibióticos bacteriostáticos

Inhiben la multiplicación de las células bacterianas pero no las destruyen, permitiendo así que las defensas del huésped lo hagan. Estos compuestos, algunos actúan sobre la subunidad 30S y otros sobre la subunidad 50S del ribosoma.

a) Antibióticos bacteriostáticos que actúan sobre la subunidad 30S del ribosoma.

El mecanismo de acción no se conoce con precisión, pero se sabe que inhiben la síntesis proteica de manera reversible, interactuando con la subunidad 30S del ribo

soma, inhibiendo el proceso de translocación; así ocurre con la espectinomina. Otros actúan inhibiendo la síntesis de proteínas mediante el bloqueo de la unión del aminoacil-tRNA al complejo 30S-mRNA ribosómico, como las tetraciclinas.

b) Antibióticos bacteriostáticos que actúan sobre la subunidad 50S del ribosoma.

Aun cuando no se puede afirmar con certeza el mecanismo de inhibición de la síntesis proteica para este grupo de antibióticos, se ha llegado a la conclusión de que el fármaco se une de manera reversible a la subunidad 50S del ribosoma, inhibiendo la translocación. Se postula que hay diferencias particulares entre el mecanismo de inhibición de cada uno de los antibióticos incluidos en este grupo, pero en sí todos obedecen a un comportamiento general. Ejemplos de estos antibióticos son: clindamicina, cloramfenicol, eritromicina y lincomicina.

### iii. Alteración del metabolismo del ácido desoxirribonucleico.

La acción de estos antibióticos<sup>(2)</sup> se debe a la inhibición del proceso de la transcripción, bloqueando el

paso en que la información genética fluye del DNA al -- RNA, impidiendo el metabolismo natural del DNA. La enzima responsable de la transcripción se denomina RNA-polímerasa dependiente de DNA, o también es conocida como transcriptasa.

Existen alrededor de treinta antibióticas distintas que tienen un modo de acción que inhibe - el proceso de la transcripción, pero que obedecen a un mecanismo diferente.

Algunos antibióticos se unen fuertemente al DNA, - ya sea intercalándose entre pares de bases homólogas adyacentes de DNA o por la unión de las cadenas del DNA; provocando en ambos casos una distorsión de la configuración estérica del DNA bloqueando la transcripción, ya que de esta manera se impide la acción continuada de la transcriptasa. Figuran en este grupo: adriamicina, actinomicina D, mitomicina C y plicamicina (estos antibióticos no tienen un uso antibacterial sino antineoplásico).

Otro antibiótico de uso antineoplásico, la bleomicina, causa la fragmentación del DNA inhibiendo al mismo tiempo la incorporación de timidina al DNA.

Antibióticos como la rifampicina, se unen directa-

mente a la transcriptasa, de una forma muy apretada pero no covalentemente a las enzimas de las bacterias sensibles, específicamente a la subunidad  $\beta$  de la enzima, evitando la unión de otros nucleósidos trifosfatos a la enzima. La rifampicina si tiene efectos y usos antibacterianos.

#### iv. Alteración en la función de la membrana celular.

Los antibióticos que causan algún efecto sobre la función de la membrana celular (específicamente la permeabilidad)<sup>(2,6)</sup>, tienen interacciones específicas con la membrana, las cuales alteran su función de tal manera que la célula muere.

Estos antibióticos actúan unos sobre células procarionóticas y otros sobre células eucarióticas, pues aun cuando la membrana celular de un procarionote es similar en estructura a la de un eucariote, existen diferencias en la composición química.

La membrana celular rodea por completo a la célula y es una delgada estructura que tiene un papel vital, - separar el citoplasma de la pared celular, constituyendo el límite osmótico de la célula y controlando tanto

la entrada como la salida de sustancias; por lo cual - si se destruye se produce la muerte. Tiene como principales componentes fosfolípidos y proteínas, los fosfolípidos (Fig. 2.5) constituyen la estructura básica acomodados de tal forma que los grupos hidrófobos se asocian

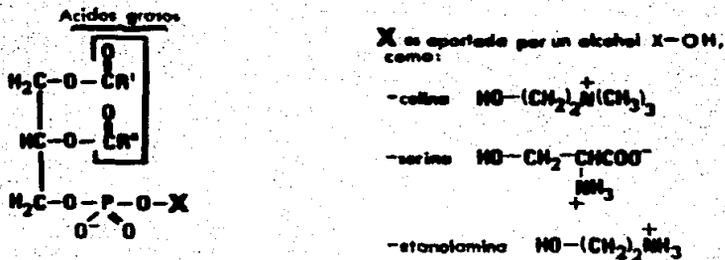


Fig. 2.5 Estructura general de un fosfolípido.

por un lado y los grupos hidrofílicos por otro, lo cual origina una membrana biestratificada u hoja bimolecular (Fig. 2.6). Las principales proteínas son hidrófobas y se asocian quedando incorporadas en la matriz fosfolípida. Las moléculas de proteína están también ligadas a los grupos iónicos del fosfolípido. En conjunto toda la estructura se estabiliza primordialmente por enlaces de hidrógeno.

Las pequeñas diferencias que existen en la constitución de la membrana celular entre procaríotes y eucaríotes, consisten en el tipo de fosfolípidos y protef

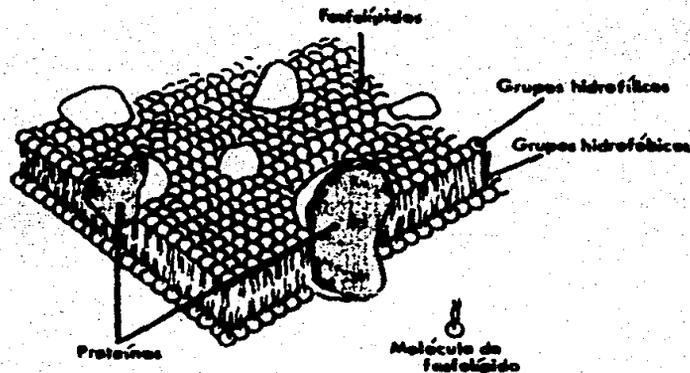


Fig. 2.6 Esquema de la estructura de una membrana celular.

nas que lo conforman. Sin embargo la diferencia más importante es que los microorganismos eucariotes tienen esteroles (Fig. 2.7) en sus membranas, mientras que en los microorganismos procariotes los esteroides son raros o no existen. Debido a esta diferencia, ciertos antibióticos que actúan sobre los esteroides son activos contra los eucariotes pero no contra los procariotes.

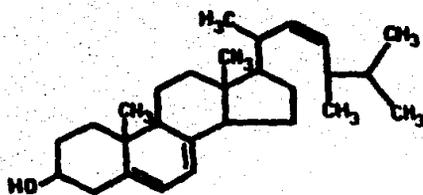


Fig. 2.7 Estructura de un esteroide típico de las células eucarióticas, el ergosterol.

## Antibióticos que actúan sobre procariontes

Existen dos diferentes mecanismos de acción sobre células procariontes, aquellos que actúan como ionóforos y los que interactúan con los fosfolípidos.

a) Antibióticos que actúan sobre procariontes como ionóforos.

El antibiótico actúa primordialmente como ionóforo ("habilidad de ciertos antibióticos para llevar iones - a través de barreras lipídicas tales como las membranas celulares y las dobles capas de los lípidos artificiales<sup>(6)</sup>); formando canales en la membrana celular desde la superficie externa hasta la superficie interna. De esta manera, los iones difunden hacia el interior del canal alterando el contenido de cationes celulares, - principalmente de potasio (solamente penetran cationes univalentes, excluyéndose los cationes polivalentes y - los aniones<sup>(8)</sup>), lo cual produce la muerte a la célula microbiana. En este grupo se encuentra la gramicidina.

b) Antibióticos que actúan sobre procariontes interactuando con los fosfolípidos.

El antibiótico interacciona con los fosfolípidos - que constituyen la membrana celular, ocasionando la desorientación de las capas proteica y lipídica. El anti-

biótico actúa como un agente tensoactivo sobre la membrana de las células microbianas, produciendo transtornos en su capacidad de barrera osmótica y ocasionando la salida de constituyentes intracelulares y la consiguiente desintegración de la célula. Este es el mecanismo de acción de las polimixinas.

### Antibióticos que actúan sobre eucariotes

El antibiótico se fija a un estero<sup>l</sup> membran<sup>al</sup> (específicamente el ergosterol, constituyente típico de hongos, levaduras y algunos protozoarios), el que probablemente se reorienta formando poros o canales en la membrana, permitiendo así la filtración de pequeñas moléculas que son componentes necesarios para la célula microbiana. Este comportamiento presentan candidicina, anfotericina B y nistatina.

La clasificación de los antibióticos de acuerdo al mecanismo de acción, se resume en la tabla 2.1.

#### 2.1.2 CLASIFICACION DE ACUERDO A LA ESTRUCTURA QUIMICA

La clasificación de los antibióticos de acuerdo a la estructura química<sup>(2,3,12)</sup>, se basa en la relación estructural de los grupos funcionales que los constitu-

**Tabla 2.1 Modo general de la acción antibacteriana.**

<u>Inhibición de la biosíntesis de la pared celular</u>	
<b>Inhiben:</b>	
<b>Paso 1</b> Formación de la unidad básica de la pared celular	cicloserina.
<b>Paso 2</b> Unión covalente de las unidades básicas a la pared celular preexistente	bacitracina y vancomicina.
<b>Paso 3</b> Formación en la pared celular de una envoltura entrecruzada y resistente	penicilinas y cefalosporinas.
<u>Inhibición de la síntesis proteica</u>	
<b>Antibióticos Bactericidas</b> Inhiben la iniciación y actúan sobre la subunidad 30S	estreptomina, gentamicina, kenamicina, neomicina y tobramicina.
<b>Antibióticos Bacteriostáticos</b> Inhiben la translocación y actúan sobre:	
- la subunidad 30S	espectinomina y tetraciclinas.
- la subunidad 50S	clindamicina, clorafenicol, eritromicina y lincomicina.
<u>Alteración del metabolismo del ácido desoxirribonucleico</u>	
Se unen al DNA	actinomina D, adriamicina y mitomicina C.
Se unen a la transcriptasa	rifampicina.
Fragmentan el DNA	bleomicina.
<u>Alteración en la función de la membrana celular (la permeabilidad)</u>	
<b>Actúan sobre procariones</b>	
- como ionóforos	gramicidina.
- interactuando con los fosfolípidos	polimixinas.
<b>Actúan sobre eucariotes</b>	anfotericina B, candidina y nistatina.

yen, y se dividen en los siguientes grupos:

- i. Aminoglucósidos.
- ii. Cefalosporinas (antibióticos  $\beta$ -lactámicos).
- iii. Macrólidos.
- iv. Penicilinas (antibióticos  $\beta$ -lactámicos).
- v. Polienos.
- vi. Polipéptidos.
- vii. Tetraciclinas.
- viii. Varios.

#### i. Aminoglucósidos.

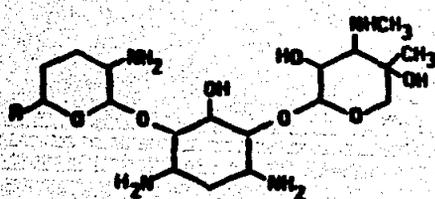
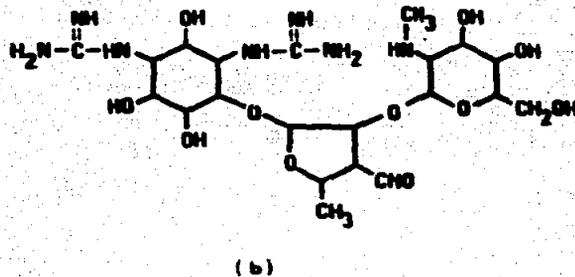
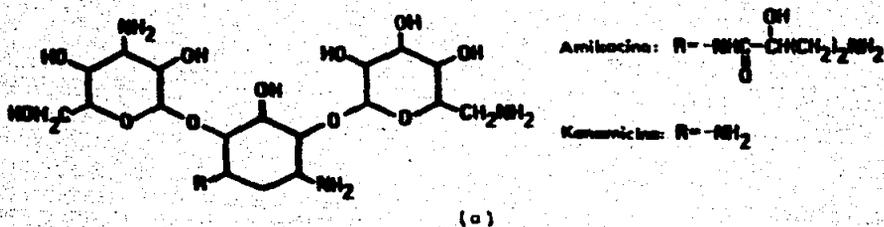
Son compuestos policatiónicos constituidos por aminoazúcares unidos por enlaces glucosídicos, producidos por diferentes especies de Streptomyces.

Los aminoglucósidos son antibióticos bactericidas (contra bacterias gramnegativas), que inhiben la síntesis de proteínas (sección 2.1.1) de manera similar aun cuando probablemente existen ligeras diferencias en el mecanismo de acción de cada uno.

Los usos terapéuticos de los aminoglucósidos son comunes para algunos de los miembros del grupo, pero en general tienen usos particulares. Desafortunadamente -

estos compuestos ejercen una acción nefrotóxica y ototóxica y pueden producir también un bloqueo neuromuscular. En concentraciones lo suficientemente elevadas, tanto el equilibrio como la audición estarán afectados por estos antibióticos. Si la pérdida de la audición y el equilibrio no es importante, la supresión de la terapia usualmente dará por resultado un completo retorno a la función normal; sin embargo, puede ocurrir una disminución permanente en la agudeza auditiva o incluso sordera absoluta.

Los antibióticos aminoglucósidos más utilizados son: amikacina (Fig. 2.8.a) derivada semisintéticamente de kanamicina (Fig. 2.8.a), estreptomina (Fig. 2.8.b), gentamicina (mezcla antibiótica de gentamicina  $C_1$ , gentamicina  $C_2$  y gentamicina  $C_{1A}$ ) (Fig. 2.8.c), neomicina (mezcla antibiótica donde el mayor componente es neomicina B, epímero de neomicina C) (Fig. 2.8.d) y tobramicina (Fig. 2.8.e). Otro antibiótico aminoglucosídico, la paromomicina (mezcla antibiótica donde el mayor constituyente es paromomicina I) (Fig. 2.8.d), a diferencia del resto de los aminoglucósidos es utilizado en el tratamiento de infecciones por tenias, amebiasis intestinal y también ejerce actividad antibacteriana contra microorganismos de tracto gastrointestinal.



Gentamicina	R
C <sub>1</sub>	$\begin{array}{c} \text{CH-NH-CH}_3 \\   \\ \text{CH}_3 \end{array}$
C <sub>2</sub>	$\begin{array}{c} \text{CH-NH}_2 \\   \\ \text{CH}_3 \end{array}$
C <sub>1A</sub>	$\text{CH}_2\text{-NH}$

(c)

Fig. 2.B a) Amikacina y kanamicina. b) Estreptomicina. c) Gentamicina C<sub>1</sub>, gentamicina C<sub>2</sub> y gentamicina C<sub>1A</sub>.

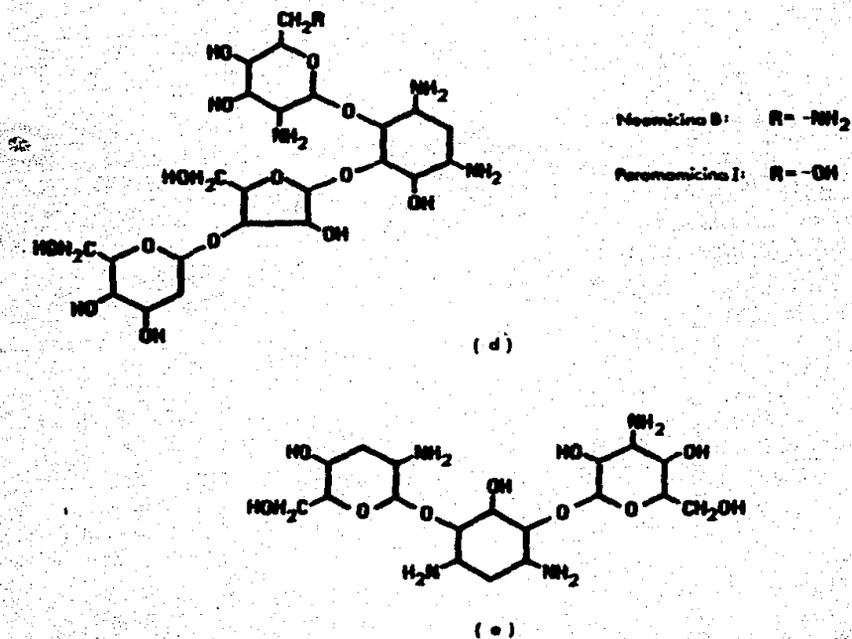


Fig. 2.8 (Cont.) d) Neomicina B y paromomicina I. e) Tobramicina.

## ii. Cefalosporinas (antibióticos $\beta$ -lactámicos).

Las cefalosporinas son un grupo de antibióticos estrechamente relacionados con las penicilinas, cuya estructura está constituida por un núcleo característico el ácido 7-aminocefalosporínico (Fig. 2.9.a) que en las penicilinas tiene su análogo el ácido 6-aminopenicilánico

co (Fig. 2.11.a). El ácido 7-aminocefalosporínico está formado por un anillo dihidrotiazínico (Fig. 2.9.a) unido a un anillo  $\beta$ -lactámico (Fig. 2.9.a).

Las cefalosporinas son antibióticos semisintéticos derivados de la cefalosporina C, uno de los productos de fermentación del Cephalosporium acremonium, que no es usada terapéuticamente.

El mecanismo de acción de las cefalosporinas es similar al de las penicilinas (sección 2.1.1), actúan inhibiendo la biosíntesis de la pared celular. Tienen un espectro de acción relativamente amplio, son activas -- contra muchos de los agentes patógenos grampositivos comunes (excepto el enterococo) y también contra bacterias gramnegativas (E. coli, P. mirabilis y Klebsiella). Son utilizadas cuando se presentan resistencia o reacciones de hipersensibilidad a las penicilinas. (En algunos casos puede presentarse sensibilidad cruzada entre penicilinas y cefalosporinas).

Existen diversas cefalosporinas, pero las más utilizadas son: cefaclor (Fig. 2.9.b), cefadroxil (Fig. 2.9.c), cefalexina (Fig. 2.9.d), cefaloridina (Fig. 2.9.e), cefalotina (Fig. 2.9.f), cefazolina (Fig. 2.9.g) y cefradina (Fig. 2.9.h).

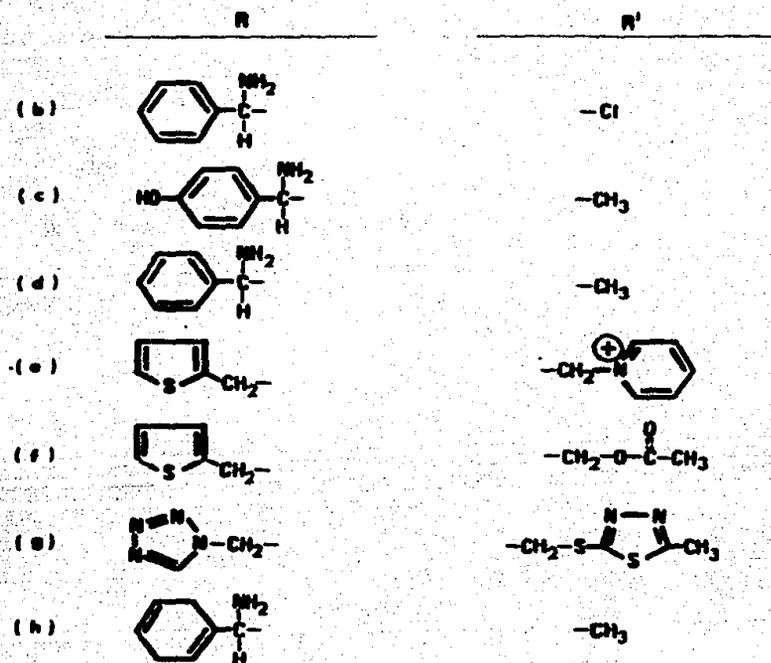
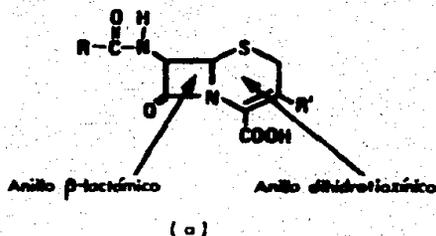


Fig. 2.9 a) Acido 7-aminocefalosporínico, nucleobásico de las cefalosporinas. b) Cefaclor. c) Cefadroxil. d) Cefalexina. e) Cefaloridina. f) Cefalotina. g) Cefazolina. h) Cefradina.



fue discutido en la clasificación de los antibióticos - de acuerdo a su mecanismo de acción (Sec. 2.1.1).

La eritromicina se emplea con mayor frecuencia en el tratamiento de infecciones causadas por bacterias -- grampositivas (Staphylococcus aureus, S. epidermis, --- Streptococcus pyogenes, S. pneumoniae y S. viridians), - usualmente como un antibiótico alternativo en pacientes que son alérgicos a las penicilinas.<sup>(6)</sup> Sin embargo, la frecuencia de aparición de cepas resistentes a eritromi- cina se ha incrementado, y en algunos hospitales las ce- pas de S. aureus no son inhibidas por el fármaco hasta en un cincuenta por ciento.<sup>(11)</sup> Entre los microorganis- mos gramnegativos la mayoría de las especies de Neisse- ria y Campylobacter y algunas especies de Bordetella, - Brucella, Yersinia y haemophilus son sensibles a la eri- tromicina.

#### iv. Penicilinas (antibióticos $\beta$ -lactámicos).

Se da el nombre de penicilinas a un grupo de subs- tancias antibióticas producidas por el crecimiento de - varias especies de Penicillium, que tienen en común un núcleo básico el ácido 6-aminopenicilánico (Fig. 2.11.a). El ácido 6-aminopenicilánico esta formado por un anillo

tiazolidinico (Fig. 2.11.a) unido a un anillo  $\beta$ -lactámico (Fig. 2.11.a).

Las penicilinas ejercen su actividad antibacterial inhibiendo la biosíntesis de la pared celular (al igual que las cefalosporinas) (Sec. 2.1.1). Son bacteriostáticas en bajas concentraciones y bactericidas en altas concentraciones.

La penicilina G (Fig. 2.11.b), el compuesto prototipo del grupo de las penicilinas, tiene un espectro de acción reducido y es muy sensible a la inactivación por la penicilinasasa (la penicilinasasa es una enzima producida por las bacterias como un mecanismo de defensa, que inactiva al antibiótico).<sup>(6)</sup> La penicilina G, es el fármaco de elección para tratar infecciones por cepas no productoras de penicilinasasa de la mayor parte de los cocos, por bacilos grampositivos, y por espiroquetas.<sup>(3,6)</sup>

Numerosas penicilinas han sido desarrolladas con efectos terapéuticos deseables, tales como: mayor estabilidad en medios ácidos, menor unión a las proteínas séricas, resistencia a la acción de la penicilinasasa y un espectro de acción antibacteriano más amplio.<sup>(6)</sup>

La penicilina V (Fig. 2.11.c), tiene el mismo espectro antibacteriano que la penicilina G y es rápida--

mente inactivada por la penicilinas, pero es más estable en medios ácidos y se une menos a las proteínas. Por estas razones se hidroliza menos al pH del estomago, se absorbe mejor y alcanza concentraciones plasmáticas más altas que la penicilina G, lo que la hace la forma preferida para la administración oral.

La metecilina (Fig. 2.11.d), la oxacilina (Fig. 2.11.e) y la dicloxacilina (Fig. 2.11.f) son penicilinas resistentes a la penicilinas. Tienen un espectro de acción antibacterial reducido, similar al de la penicilina G, y su uso principal es en el tratamiento de infecciones causadas por estafilococos productores de penicilinas.<sup>(6)</sup>

Las llamadas penicilinas de amplio espectro, además de ser efectivas contra las bacterias normalmente sensibles a la penicilina G, son activas contra cierto número de bacilos gramnegativos. Todas las penicilinas de amplio espectro son susceptibles a la acción de la penicilinas, pero desafortunadamente a pesar de que existen indicaciones específicas para el uso de cada una de estas penicilinas,<sup>(10-12)</sup> son usadas con frecuencia de manera inapropiada. Las penicilinas de amplio espectro más comunmente utilizadas son: la ampicilina (Fig. 2.11.g), la amoxicilina (Fig. 2.11.h) y la carbenicili-

na (Fig. 2.11.i)(2,6,11)

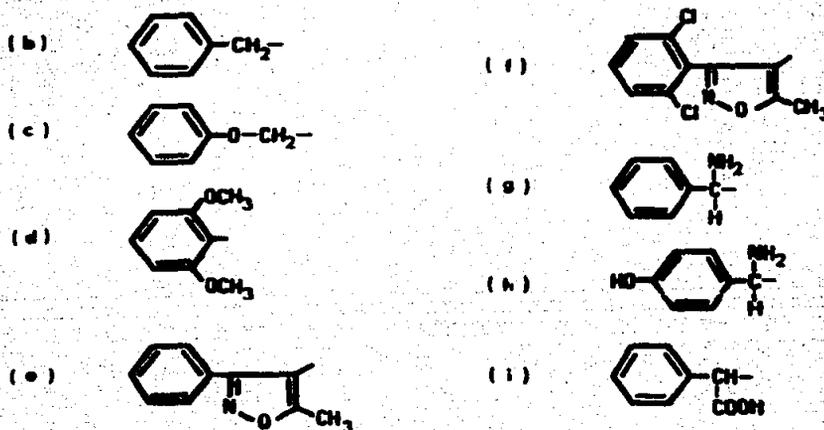
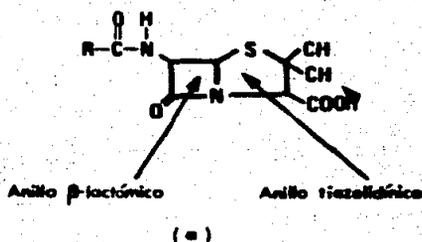


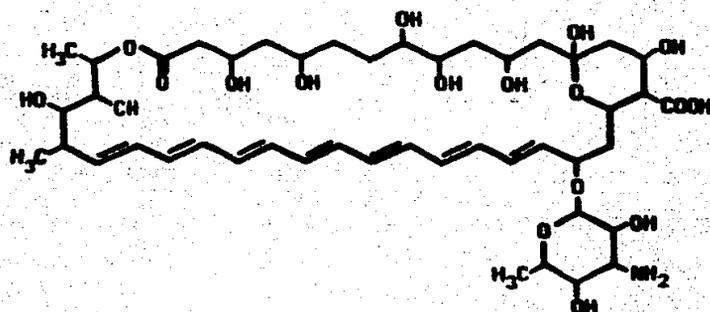
Fig. 2.11 a) Acido 6-aminopenicilánico, núcleo básico de las penicilinas. b) Penicilina G. c) Penicilina V. d) Meticilina. - e) Oxacilina. f) Dicloxacilina. g) Ampicilina. h) Amoxicilina. i) Carbenicilina.

v. Polienos.

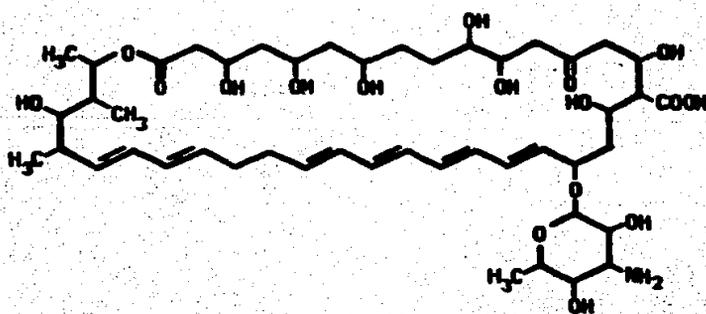
Los polienos son grandes moléculas con una porción hidroxilada que es hidrofílica, y otra porción que contiene de cuatro a siete dobles enlaces conjugados que es lipofílica. La región no saturada (es cromófora) es ta sujeta a la fotooxidación y esto contribuye a la inestabilidad de estos compuestos en solución, esta porción lipofílica también les confiere poca solubilidad en medios acuosos.<sup>(6)</sup>

Los antibióticos de este grupo son compuestos producidos por actinomicetos que actúan sobre la membrana celular afectando la permeabilidad, lo que provoca la muerte del microorganismo.<sup>(6)</sup> Los polienos son utilizados en el tratamiento de las infecciones fungicas debidas a Candida albicans, Criptococcus neoformans e Histoplasma capsulatum principalmente.<sup>(10-12)</sup>

Los antibióticos poliénicos son un gran grupo de compuestos, pero muchos de ellos son demasiado tóxicos para ser utilizados terapéuticamente. La anfotericina B (Fig. 2.12.a) y la nistatina (Fig. 2.12.b) son los únicos antibióticos de este grupo, que utilizan clinicamente en México.<sup>(10-11)</sup>



(a)



(b)

Fig. 2.12 a) Anfotericina B. b) Nistatina.

#### vi. Polipéptidos.

Son antibióticos de origen bacterial constituidos por D- y L-aminoácidos, que se obtienen como mezclas antibióticas del metabolismo de varias especies de bacilos del genero Bacillus.

De dichas mezclas antibióticas se han aislado numerosos polipéptidos, pero debido a que algunos son muy tóxicos los más utilizados en la terapia médica son: bacitracina (mezcla antibiótica en la que predomina bacitracina A) (Fig. 2.13.a), gramicidina A (Fig. 2.13.b), polimixina B (Fig. 2.13.c) y polimixina E (Fig. 2.13.c).

Los antibióticos polipeptídicos difieren unos de otros en su mecanismo de acción (Sec. 2.1.1), por lo que sus propiedades antibióticas también son distintas. En general todos los antibióticos polipeptídicos son utilizados en infecciones superficiales<sup>(2)</sup>; sin embargo existe información sobre el uso por vía oral e intratecal de la bacitracina y por vía intramuscular de las polimixinas<sup>(10)</sup>

La bacitracina es utilizada para combatir infecciones causadas por microorganismos grampositivos (Staphylococcus, Streptococcus y Clostridium difficile) y gramnegativos (Neisseria, Haemophilus influenzae y Treponema pallidum). La gramicidina es activa contra microorganismos grampositivos (Staphylococcus, Streptococcus, Neisseria y Bacillus), y las polimixinas contra microorganismos gramnegativos (Escherichia coli, Shigella, Pseudomonas aeruginosa, Haemophilus influenzae, Klebsella pneumoniae, etcétera)<sup>(10-12)</sup>



### vii. Tetraciclinas.

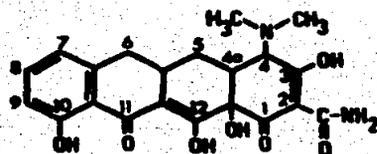
Son un grupo de antibióticos obtenidos del desarrollo de actinomicetos (varias especies de Streptomyces), relacionados estrechamente en su estructura policíclica básica.<sup>(12)</sup>

Las tetraciclinas tienen un mecanismo de acción -- (Sec. 2.1.1) que consiste en inhibir la síntesis de proteínas. Son consideradas de gran utilidad terapéutica, ya que poseen un amplio espectro de actividad antibacteriana contra bacterias grampositivas y gramnegativas.<sup>(6)</sup>

Las tetraciclinas más utilizadas son: la clortetraciclina (Fig. 2.14.c), la demeclociclina (Fig. 2.14.b), la doxiciclina (Fig. 2.14.c), la minociclina (Fig. 2.14.d), la oxitetraciclina (Fig. 2.14.e) y la tetraciclina --- (Fig. 2.14.f).

### viii. Varios.

Son aquellos antibióticos que no pertenecen a ninguno de los grupos anteriores y cuyas estructuras no -- tienen nada en común. En este caso se encuentran el cloramfenicol (Fig. 2.15), la cicloserina (Fig. 2.16), --



	Substituyendo(s)	Posición
( a )	-Cl	7
( b )	-OH, -H	6
	-Cl	7
( c )	-OH, -H	5
	-CH <sub>3</sub> , -H	6
( d )	-N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	7
( e )	-OH, -H	5
	-CH <sub>3</sub> , -OH	6
( f )	-CH <sub>3</sub> , -OH	6

Fig. 2.14 a) Clortetraciclina. b) Demeclociclina. c) Doxiciclina. d) Minociclina. e) Oxitetraciclina. f) Tetraciclina.

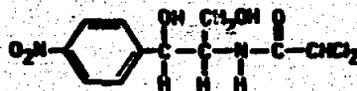


Fig. 2.15 Cloramfenicol.

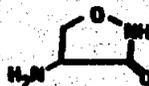


Fig. 2.16 Cicloserina.



## 2.2 EFECTO DE LOS IONES METALICOS SOBRE LOS ANTIBIOTICOS.

Varios estudios han demostrado que muchos de los fármacos pueden actuar como buenos ligantes, y entre éstos se encuentran los antibióticos.<sup>(9)</sup>

Dado que en el cuerpo humano existen iones metálicos cuyas concentraciones son controladas por el mismo, mediante proteínas y hormonas, los antibióticos como buenos ligantes se verán afectados en su actividad debido a la presencia de dichos iones metálicos in vivo.

Así por ejemplo la actividad de las tetraciclinas es dependiente de la presencia de iones metálicos, afectándose su absorción gastrointestinal por la presencia de dichos iones.

Desde luego también existen casos en los que la eficiencia del antibiótico se ve incrementada cuando se coordina, porque el compuesto de coordinación metálico es más liposoluble que el fármaco y entonces el ion metálico actúa como transportador a través de la membrana celular. En este caso se encuentra la bacitracina que para su actividad antibacterial requiere de la presencia de iones metálicos divalentes tales como el ion Zn(II).

Lo poco que se conoce sobre este tipo de interacciones, ha despertado un gran interés por conocer la afinidad que los diferentes antibióticos presentan por los iones metálicos y las interacciones que sufren con dichos iones. Tal inquietud, ha llevado a los investigadores a realizar estudios en este campo para tratar de dar respuesta a las interrogantes surgidas. El objetivo de este trabajo, es efectuar una revisión de estos estudios, de entre los cuales se han seleccionado los de mayor trascendencia para ser tratados en los siguientes capítulos.

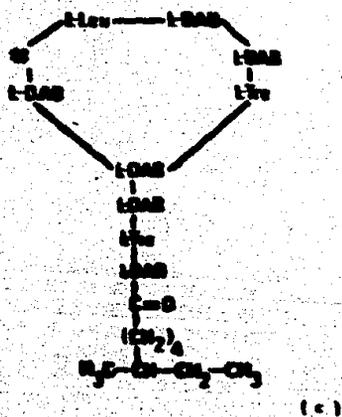
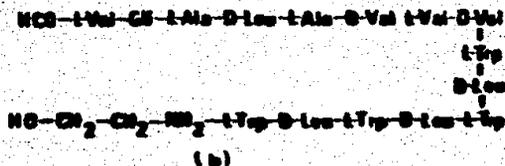
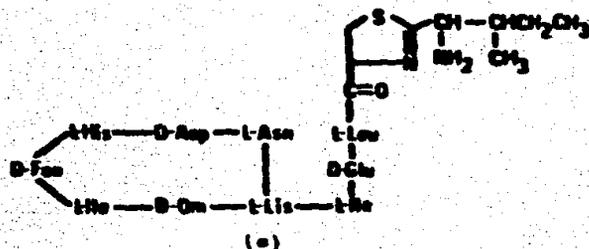
### CAPITULO 3

#### INTERACCION DE IONES METALICOS CON POLIPEPTIDOS

Los polipéptidos son antibióticos constituidos por D- y L-aminoácidos cuyas estructuras estan estrechamente relacionadas. Por razones de toxicidad los polipéptidos más utilizados en clínica son: bacitracina cuyo mayor componente es bacitracina A (Fig. 3.1.a), gramicidina A (Fig. 3.1.b), polimixina B (Fig. 3.1.c) y polimixina E (colistina) (Fig. 3.1.c)<sup>(3,10-12)</sup>

Estos antibióticos son producidos por el metabolismo de varias especies de Bacillus (Tabla 3.1)

El mecanismo de acción es muy distinto para cada uno, lo que les confiere propiedades antimicrobianas diferentes. Sobre el mecanismo de acción se discutió en el capítulo correspondiente (Cap. 2). La bacitracina es un inhibidor de la biosíntesis de la pared celular que actúa impidiendo la formación del peptidoglucano. La gramicidina A y las polimixinas B y E actúan alterando la función de la membrana celular, donde la gramicidina A actúa como ionóforo formando canales en la membrana de la superficie externa al interior y las poli



Polimixina B:  $\text{D}^{\text{D}}$  D-Fea

Polimixina E:  $\text{D}^{\text{D}}$  D-Lys

DAS = residuo de ácido diaminosuccínico

Fig. 3.1 a) Bacitracina A. b) Gramicidina A.  
c) Polimixina B y Polimixina E.

mixinas como agentes tensoactivos sobre la membrana.

Antibiótico	Microorganismo productor
Bacitracina	<u>Bacillus subtilis</u>
Gramicidina A	<u>Bacillus brevis</u>
Polimixina B	<u>Bacillus polymyxa</u>
Polimixina C	<u>Bacillus colistinus</u>

### 3.1 FARMACOLOGIA DE LOS POLIPEPTIDOS

#### 3.1.1 ABSORCION, METABOLISMO Y EXCRECION

La bacitracina es absorbida en cantidades insignificantes por vía oral, pero, en cambio después de la administración parenteral se absorbe rápida y completamente alcanzando concentraciones plasmáticas bactericidas (efecto que dura entre 4 y 6 horas). Este antibiótico se distribuye ampliamente en el cuerpo (excepto en el sistema nervioso central) y pasa a los líquidos ascítico y pleural, si las meninges no están inflamadas solo algunos indicios de bacitracina pasan al líquido cefalorraquídeo. Su excreción es por filtración glomerular.

Existe una forma inyectable, pero cuando se administra sistemicamente es muy nefrotóxica, por lo que no hay indicación clínica para su uso; motivo por el cual, el empleo de la bacitracina ha sido restringido al uso tópico en las infecciones superficiales, Los preparados tópicos contienen, a menudo, otros antibióticos como la neomicina y las polimixinas.<sup>(10)</sup>

La gramicidina A no se absorbe por vía oral y debido a su toxicidad sistémica (es extremadamente tóxica a los eritrocitos, produciendo hemolisis, es hepatotóxica y nefrotóxica) no se utiliza parenteralmente, por lo cual al igual que la bacitracina su uso se restringe a aplicaciones tópicas en infecciones locales (oculares, nasales, dérmicas, óticas y laringofaríngeas). La presencia de líquidos corporales, enzimas proteolíticas y productos de lisis celular no alteran importantemente su actividad antibacteriana, sin embargo los exudados de microorganismos gramnegativos inhiben su efecto. También se ha observado que la presencia de fosfolípidos puede reducir su actividad. La aplicación local en superficie como úlceras y heridas no produce toxicidad sistémica porque no se absorbe. Al igual que la bacitracina, en sus presentaciones comerciales puede estar mezclada con otros antibióticos.<sup>(6,10-12)</sup>

Las polimixinas no se absorben por vía gastrointes

tinal, después de su administración oral permanecen en el lumen del intestino y no se encuentran presentes en el tejido de la pared intestinal. Su absorción cutánea es muy pobre, aún en quemaduras. El uso parenteral de las polimixinas es muy doloroso. Las polimixinas presentan un alto volumen de distribución porque se unen extensamente a ciertos tejidos, especialmente en hígado y riñón; pues, se unen a los componentes fosfolípidicos de los tejidos de los mamíferos. No penetran en el líquido cefalorraquídeo, ni aún cuando las meninges se encuentran inflamadas. La excreción renal es mediante filtración glomerular muy lenta, ya que se liberan lentamente de sus depósitos en el organismo. (6,10)

### 3.1.2 INDICACIONES TERAPEUTICAS

La bacitracina es bactericida contra microorganismos grampositivos como Staphylococcus, Streptococcus y Clostridium difficile; es activa contra microorganismos gramnegativos como Neisseria y Haemophilus influenzae, y contra el Treponema pallidum. La bacitracina de uso tópico está indicada en la conjuntivitis supurativa, la úlcera corneal infectada, la otitis externa y el eccema infectado. Estudios limitados indican su uso oral en

colitis pseudomembranosa provocada por Clostridium dif-  
ficile. Se ha usado en pocas ocasiones por vía intrate-  
cal en meningitis estafilocócica.<sup>(10)</sup>

La gramicidina es activa contra microorganismos --  
grampositivos como Staphylococcus aureus, Streptococcus  
pneumoniae, S. viridians, S. fecalis, Neisseria Spp, ba-  
cilos de la difteria y aerobios esporulantes como B. --  
anthracis, B. licheniformis y B. pasteurii, incluyendo  
las micobacterias. Es muy usada en infecciones ocula-  
res, nasales, dérmicas, óticas y laringofaríngeas.<sup>(10)</sup>

Las polimixinas son activas contra microorganismos  
gramnegativos como Escherichia coli, Shigella, Pseudo--  
monas aeruginosa, Aerobacter aerogenes, Klebsiella pneu-  
moniae y Haemophilus influenzae, los cuales rara vez de-  
sarrollan resistencia. Están indicadas en infecciones  
superficiales de piel, oído y ojo; como en impétigo, fo-  
liculitis, acné miliar necrótico, dermatitis seborreica,  
furunculosis, otitis externa, conjuntivitis, queratitis,  
dacriocistitis, úlcera corneal, etcétera.<sup>(10-12)</sup>

### 3.1.3 EFECTOS SECUNDARIOS

La bacitracina aplicada por vía tópica rara vez --

causa hipersensibilidad manifestada como dermatitis ---  
alérgica, pero cuando sucede las reacciones son seve---  
ras.<sup>(10)</sup>

La gramicidina A produce pocos efectos indeseables,  
no retarda la cicatrización y es poco sensibilizante. -  
Si se aplica en heridas recientes, puede producir hemó-  
lisis local y reactivar el sangrado. Produce meningi-  
tis química si se usa cerca del espacio subaracnoideo.-  
Anosmia y parosmia cuando se aplica intranasalmente, --  
probablemente por lesión en las terminaciones del nervi-  
o olfatorio. En concentraciones elevadas puede produ-  
cir irritación local.<sup>(10)</sup>

Los principales efectos tóxicos de las polimixinas  
son el daño renal y el neurológico. Puede haber anuria  
y necrosis. En dosis diarias de 2 a 5 mg/Kg de peso --  
corporal causan proteinuria y hematuria, retención de -  
nitrógeno y disminución de la filtración glomerular. -  
Las manifestaciones neurológicas incluyen bochorno, ver-  
tigo, ataxia, somnolencia y trastornos sensoriales pe-  
riféricos, así como debilidad de las piernas y debili-  
dad muscular generalizada. Su aplicación intramuscular  
causa dolor intenso y prolongado que no cede con anesté-  
sicos locales. Por vía intratecal produce irritación -  
meníngea, cefalea, tensión cervical, aumento de células

y de proteínas en el líquido cefalorraquídeo. Además - por cualquier vía de administración puede producir bloqueo neuromuscular acompañado de apnea y parálisis respiratoria. La toxicidad puede aumentar por otros medicamentos nefrotóxicos como los aminoglucósidos, las cefalosporinas, etcétera.<sup>(10)</sup>

### 3.2 ESTUDIOS REALIZADOS SOBRE LA INTERACCION DE IONES METALICOS CON LOS POLIPEPTIDOS

Existen evidencias de que los antibióticos polipeptídicos en presencia de iones metálicos, sufren alteraciones en su comportamiento. Tales evidencias se han obtenido mediante estudios que tratan de resolver interrogantes sobre dichas alteraciones, como el hecho mismo de que se afecte el comportamiento natural del antibiótico; los trabajos que tratan este tema son el objetivo de este capítulo.

Dado que los antibióticos polipeptídicos presentan diferentes comportamientos, el reporte de los trabajos realizados sobre la interacción de iones metálicos con los polipéptidos se ha dividido en tres secciones que corresponden a cada uno de los antibióticos del grupo:

- Interacción de iones metálicos con bacitracina.

- Interacción de iones metálicos con gramicidina A.
- Interacción de iones metálicos con polimixinas.

### 3.2.1 INTERACCION DE IONES METALICOS CON BACITRACINA

La bacitracina como todos los polipéptidos, es una mezcla de varios componentes estrechamente relacionados donde el componente principal es la bacitracina A (Fig. 3.1.a), que consiste de un anillo peptídico de siete miembros con un extremo de cinco residuos de aminoácido.

Si bien la configuración de esta molécula no es conocida con precisión, hay evidencia que sugiere que el extremo pentapeptídico esta doblado sobre el anillo peptídico de siete miembros, y también se propone que el carbono carbonílico de la fenilalanina y el grupo amino libre de la isoleucina pueden ser aproximados uno al otro<sup>(13-15)</sup>. Un estudio de RMN <sup>13</sup>C<sup>(21)</sup> indica que el anillo imidazol de la histidina y los grupos carboxilo de los ácidos aspártico y glutámico están todos próximos los unos a los otros.

La bacitracina inhibe la biosíntesis de la pared celular (Capítulo 2, sección 2.1.1) impidiendo la forma

ción del mucopéptido que la constituye, actuando como una maya rígida y resistente. Al no formarse esta maya (como la actividad de las autolisinas o enzimas bacterianas continúa en la superficie de la pared celular, ocasionan el rompimiento de esta), en los puntos debiles de la pared la membrana celular sobresale y finalmente se rompe ocasionando un cambio brusco en el contenido celular, lo que produce la muerte de la bacteria (Fig. 3.2).

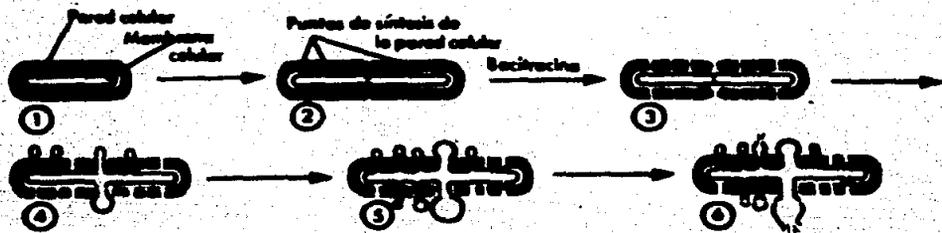


Fig. 3.2 La síntesis de la nueva pared celular durante la división de la célula (se localiza en un solo punto en los cocos, mientras que en los bacilos se da en diversos lugares a lo largo de la pared) se ve inhibida por la presencia de la bacitracina; en este esquema se ilustra para una bacteria. (1) Célula normal. (2) Bacteria durante la división celular. (3) Bacteria con una pared celular defectuosa después de su exposición al antibiótico. (4) y (5) Célula con la membrana celular sobresaliendo por los puntos debiles de la pared. (6) La membrana celular finalmente se rompe, y el microorganismo muere.

En los estudios realizados sobre la interacción de iones metálicos con la bacitracina se han empleado diferentes técnicas experimentales como: titulaciones potenciométricas,<sup>(19,22)</sup> valoración del pH,<sup>(19)</sup> espectroscopía de dispersión rotatoria óptica,<sup>(20)</sup> espectroscopía de absorción ultravioleta,<sup>(20,22)</sup> espectroscopía de dicroísmo circular (DC),<sup>(22)</sup> espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN)<sup>(21,24)</sup> y resonancia paramagnética electrónica (RPE).<sup>(26)</sup>

Desde hace algún tiempo se sabe que la bacitracina requiere de la presencia de cationes divalentes, tales como Mn(II), Zn(II), Cd(II), Cu(II), Ni(II) y Co(II) para que su actividad antibiótica sea efectiva; lo anterior ha sido comprobado cuando al adicionar agentes quelatantes como EDTA, dicha actividad antibiótica es suprimida.<sup>(16-18)</sup>

Mediante técnicas de espectroscopía óptica se ha demostrado que la bacitracina, posee cinco sitios de coordinación<sup>(19-22)</sup> (Fig. 3.3):

- a) el anillo imidazol de los residuos de histidina,
- b) el nitrógeno peptídico del residuo de histidina,
- c) el grupo amino del residuo N-terminal de isoleucina,
- d) el nitrógeno del anillo de tiazolina, y

- e) los grupos carboxilo libres de los ácidos aspártico y glutámico.

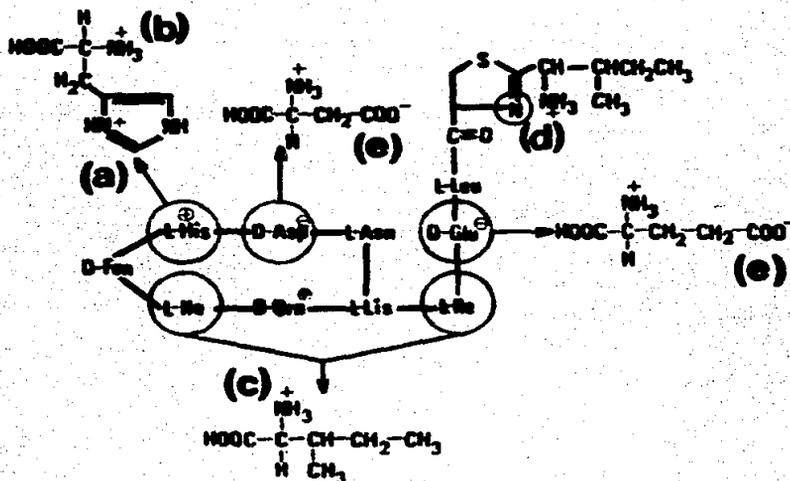


Fig. 3.3 Sitios de coordinación propuestos para la bacitracina A.

En un estudio se obtuvieron curvas de titulación potenciométrica y espectros de absorción ultravioleta (19) mediante los cuales los autores concluyeron que, el grupo imidazol de la histidina se encuentra involucrado en la formación de compuestos de coordinación con iones metálicos como Cu(II), Ni(II), Co(II) y Zn(II); los grupos carboxilo libres de los ácidos aspártico y glutámico se enlazan al Cu(II) y aparentemente el ion Mn(II) se coordina muy debilmente a la bacitracina. La tenden

cia relativa de formación de compuestos ion metálico-ba-  
citracina se ha publicado como:  $Cu > Ni > (Co, Zn) > Mn$ .<sup>(19-20)</sup>  
Sin embargo, en un trabajo de dispersión rotatoria ópti-  
ca,<sup>(20)</sup> se menciona que el ion  $Zn(II)$  se enlaza en los -  
sitios de coordinación a-d (Fig. 3.3) de la bacitracina  
A.

El compuesto formado con el ion  $Zn(II)$  es más esta-  
ble que la bacitracina A libre, tiene una relación molar  
1:1, es monomérico en agua a un pH de 6.35<sup>(20,23)</sup> y tie-  
ne aproximadamente el mismo tamaño que la bacitracina A  
libre.<sup>(20)</sup> Posteriormente un estudio de RMN  $^1H$ <sup>(24)</sup> so-  
bre la bacitracina A y sus interacciones con el ion ---  
 $Zn(II)$  publica que en el compuesto  $Zn(II)$ -bacitracina A,  
el ion  $Zn(II)$  se coordina a el anillo tiazolina, al ani-  
llo imidazol de la histidina y al grupo carboxilo del -  
ácido glutámico; aun cuando en trabajos anteriores no -  
se considera ningún grupo carboxilo involucrado. En --  
cambio, se considera que el ácido aspártico no partici-  
pa en la coordinación del metal.

El ion  $Mn(II)$  interactúa muy debilmente con la ba-  
citracina A y solamente a un pH inferior a 7. Se ha pu-  
blicado que unicamente se coordina el grupo amino del -  
residuo N-terminal de la isoleucina, y probablemente --

por ello es que el ion Mn(II) se une tan debilmente en comparación con los demas iones.<sup>(19)</sup>

Un estudio de RPE<sup>(25)</sup> publica que el ion Cu(II) se coordina con la bacitracina A, formando un compuesto -- con geometría cuadrado plana, coordinandose al anillo -- imidazol de los residuos de histidina (sitio a), al nitrógeno del anillo tiazolina (sitio d), al grupo  $\gamma$ -carboxilo del ácido glutámico (sitio e) y al grupo  $\beta$ -carboxilo del ácido aspártico (sitio e) (Fig. 3.4). Lo -- cual es consistente con lo que se proponía anteriormente,<sup>(19)</sup> de que los grupos carboxilo de los ácidos aspártico y glutámico también se coordinan. También se observó que dos átomos de nitrógeno diferentes pueden interactuar equivalentemente con el catión Cu(II); y que los cristales de Cu(II)-bacitracina A son anisotrópicos probablemente por la interacción del Cu(II) con dos átomos diferentes del antibiótico, el nitrógeno (sitios a y d) y el oxígeno (sitios e).<sup>(25)</sup>

Debido a que los ligandos sulfuro tienden a reducir el acoplamiento cuadrado plano del Cu(II), es por lo tanto improbable que el azufre del anillo tiazolina pueda coordinarse al ion Cu(II) en la formación del compuesto.<sup>(25)</sup>

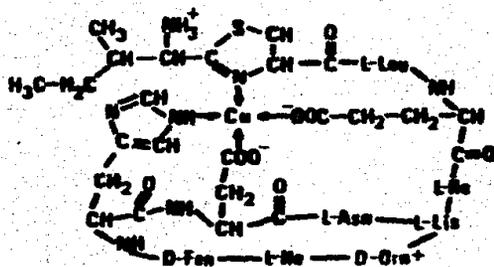


Fig. 3.4 Estructura propuesta para el compuesto de coordinación Cu(II)-bacitracina A.

En la formación del compuesto de Ni(II)-bacitracina A, se ha comprobado que, los grupos amino N-terminales de isoleucina (sitios c, Fig. 3.3) no se involucran en la coordinación como se creyó anteriormente.<sup>(26)</sup> Mediante un análisis de RPE<sup>(25)</sup> (en el cual el Ni<sup>2+</sup> se encuentra dopado con Cu<sup>2+</sup>), se obtuvo que el compuesto de Ni(II) con bacitracina presenta una conformación tetraédrica distorsionada.

### 3.2.2 INTERACCION DE IONES METALICOS CON GRAMICIDINA A

La gramicidina A (GA)(Fig. 3.1.b) es un pentadecapéptido lineal compuesto por L- y D-aminoácidos alternados. La gramicidina A actúa primordialmente como --

ionóforo, transportando pasivamente iones a través de la membrana celular, formando canales desde la superficie externa hasta la superficie interna de la membrana.<sup>(6)</sup>

Para explicar el comportamiento de la GA se ha propuesto un modelo. El antibiótico forma un tubo que pasa de una superficie de la membrana a la otra (Fig. 3.5). Los iones entran en el tubo formado por la GA en una in

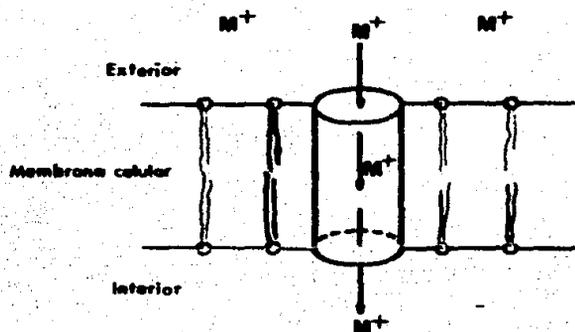
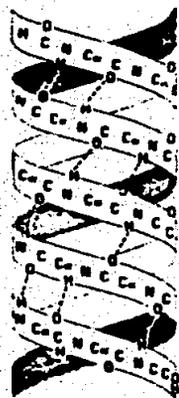


Fig. 3.5 Ilustración del modelo propuesto para el mecanismo mediante el cual la gramicidina facilita el paso de cationes a través de la membrana.

terfase de la membrana y se difunden a lo largo del interior del canal hasta el otro lado.<sup>(6)</sup> El canal formado por el antibiótico permite el paso de cationes monovalentes, pero excluye completamente a los cationes poli

valentes y a los aniones.<sup>(27)</sup> Los canales no son estáti-  
cos, sino que se forman y desaparecen constantemente.<sup>(6)</sup>

Partiendo de observaciones experimentales y consis-  
tente con el modelo de formación de canales, se ha pro-  
puesto que la GA puede adoptar una conformación tridi-  
mensional formando una estructura helicoidal en ambien-  
tes no polares, y que dos de estas hélices pueden aso-  
ciarse para formar el canal orientandose antiparalela-  
mente (Fig. 3.6).<sup>(28-30)</sup>



H---O enlaces de hidrógeno

C<sub>α</sub> representa los aminoácidos  
excepto la porción que par-  
ticipa en el enlace peptídico.

Fig. 3.6 Esquema de la conformación en doble hé-  
lice propuesta para la gramicidina A.

Estudios de difracción de rayos  $\chi$ <sup>(31-32)</sup> sobre cris-  
tales de GA, pura y con cationes Cs(I), apoyan el mode-

lo de la molécula helicoidal; pero, no publican la estructura cristalina. Sin embargo, uno de estos estudios de rayos X<sup>(31)</sup> expone: que el largo del dímero disminuye de 32 a 26 Å y el diámetro del cilindro formado por los átomos de la cadena del péptido puro aumenta, - cuando enlaza iones Cs(I).

Posteriormente estudios de DC<sup>(33,34)</sup> mencionan que existen diferencias en la estructura de la GA dependiendo de, si se encuentra en membranas (dímero) o en solventes orgánicos (doble hélice).

Se propone que la GA presenta cuatro estructuras diferentes, que por acuerdo son designadas como: estructuras  $\beta^{4.4}$  y  $\beta^{5.3}$  para la GA de cadena simple, y estructuras  $\eta\beta^{5.6}$  y  $\eta\beta^{7.2}$  para la GA de doble hélice. Estas estructuras fueron estudiadas por métodos de espectroscopía infrarroja y de Raman<sup>(35)</sup> para GA cristalina, --- GA-Cs(I) cristalina y GA-vesícula lipídica. Los resultados observados para las estructuras  $\beta^{4.4}$  y  $\beta^{5.3}$  fueron muy pobres y por tanto se excluyeron. Los resultados para las estructuras  $\eta\beta^{5.6}$  y  $\eta\beta^{7.2}$  se discuten más ampliamente mencionando que, la estructura  $\eta\beta^{5.6}$  tiene un radio de canal antibiótico para el paso de un ion no impedido (esto es cationes monovalentes) de 0.9 Å y debido a ello es improbable que la GA pudiera enlazar un

ion Cs(I) cuyo radio iónico es de 1.48 Å; mientras que la estructura  $\beta^{7.2}$  con un radio de canal antibiótico - de 2.0 Å puede fácilmente enlazar el ion Cs(I). La situación de la GA en una vesícula lipídica es más complicada que en el estado cristalino, pero, se ha podido deducir que se favorece la estructura  $\beta^{6.3}$ .

Los autores al reunir todos los resultados concluyeron que la GA inicialmente tiene la estructura  $\beta^{5.6}$  (posiblemente con algo de  $\beta^{7.2}$  si se coordina con un ion sodio), la incorporación prosigue y la estructura - se convierte en  $\beta^{6.3}$ , en el secado la estructura cambia a  $\beta^{5.6}$  (o posiblemente a  $\beta^{7.2}$  en presencia de cesio); pero, no se sabe si la GA es incorporada o no a la membrana bacteriana.

Mediante el empleo de técnicas espectroscópicas de infrarrojo, DC y RMN  $^{13}\text{C}$ (36) algunos investigadores llegaron a la conclusión de que el ion Ca(II) interacciona con la GA y que un dímero de ésta puede enlazar dos iones de Ca(II), en sitios localizados cerca del carbono terminal. Sobre estos resultados de basa una explicación para el efecto de obstrucción de Ca(II) sobre el transporte de iones de metales alcalinos como Cs(I) y K(I) a través del canal antibiótico. La coordinación -

del ion  $\text{Ca(II)}$  compete con el ion del metal alcalino, - pues si se enlaza  $\text{Ca(II)}$  los otros iones no pueden cruzar el canal antibiótico de GA.

La comparación de los espectros de infrarrojo y Raman de los cristales de GA y su compuesto con  $\text{Cs(I)}$ <sup>(37)</sup> sugiere, para la GA una estructura antiparalela  $\#5.6$  - de doble hélice, y para el compuesto con  $\text{Cs(I)}$  una estructura antiparalela del tipo  $\#7.2$ . A pesar de sus radios iónicos diferentes  $\text{Cs(I)}$ ,  $\text{K(I)}$  y  $\text{Tl(I)}$  resultaron enlazados por la misma conformación de GA. Mediante las perturbaciones presentes en las bandas del espectro de Raman los autores proponen que los iones se enlazan en el carbono terminal de la GA.

La existencia de dos formas cristalinas (I y II) - del compuesto de la GA con el ion  $\text{Cs(I)}$ , se publica en un estudio de difracción de rayos X<sup>(38)</sup> Los cristales de forma I son ortorrómbicos de malla cerrada, las hélices de la GA son orientadas a lo largo del eje c con -- una unidad repetitiva de 5.08 Å, el volumen por dímero es de 6960 Å<sup>3</sup>. Los cristales de forma II tienen alta - resolución (<1.5 Å) y son casi tetragonales, las hélices de la GA son orientadas a lo largo del eje b con -- una unidad repetitiva de 5.2 Å, el volumen por dímero es de 6520 Å<sup>3</sup>.

La conformación del compuesto de coordinación 1:1 de Cs(I)-GA fue determinada en solución (1:1) de MeOH/CHCl<sub>3</sub> por espectroscopía de RMN <sup>1</sup>H.<sup>(39)</sup> La estructura fue identificada como un dímero dextrógiro de doble hélice, donde ambas cadenas de polipéptido son antiparalelas, con 7.2 residuos de aminoácido por vuelta ( $n_p^{7.2}$ ); el compuesto incorpora dos iones Cs(I).

El transporte de iones a través del canal antibiótico de GA no se afecta por la presencia de iones Rb(I) o Cs(I), pero se reduce por iones Tl(I). Esta situación contrasta con el transporte normal (cuando no hay GA) de K(I) que si se afecta por la presencia de iones Rb(I) y Cs(I), pero casi no es alterado por iones Tl(I) en concentraciones de 5 y 10 mM.<sup>(40)</sup>

### 3.2.3 INTERACCION DE IONES METALICOS CON POLIMIXINAS

La polimixina B y la polimixina E (colistina)(Fig. 3.1.c) son las únicas polimixinas usadas en clínica por ser las menos tóxicas. Ambas son antibióticos polipéptidicos que contienen porciones tanto hidrofílicas como hidrofóbicas y se comportan como compuestos catiónicos activos de superficie a un pH fisiológico. La actividad antibacteriana de las polimixinas disminuye en pre-

sencia de compuestos aniónicos tales como los jabones.<sup>(6)</sup>

Al comportarse como cationes por la carga positiva que poseen en su molécula, actúan como agentes tensoactivos sobre la membrana celular de las bacterias susceptibles, interactuando con los fosfolípidos penetran en la membrana celular produciendo trastornos en la permeabilidad ocasionando la salida de constituyentes intracelulares, con la consecuente desintegración celular.<sup>(10)</sup>

Debido a su caracter catiónico, la actividad antibiótica de las polimixinas se ve disminuida por la presencia de iones metálicos divalentes, tales como Fe(II), Mg(II), Ca(II) y Mn(II); pues al parecer se establece una competencia por los sitios receptores de la membrana.<sup>(10,12)</sup>

## RESUMEN

Los polipéptidos son antibióticos de origen bacteriano producidos por varias especies de Bacillus, cuyas estructuras están estrechamente relacionadas, pues todos están formados por aminoácidos.

Los antibióticos polipeptídicos más utilizados en

clínica son: bacitracina (mezcla antibiótica cuyo mayor componente es bacitracina A), gramicidina A, polimixina B y polimixina E.

Tienen mecanismos de acción diferentes y por tanto sus aplicaciones también son distintas. La bacitracina inhibe la biosíntesis de la pared celular, mientras que la gramicidina A y las polimixinas alteran la permeabilidad de la membrana celular, aunque mediante mecanismos distintos. En general tienen uso exclusivamente tópico, pero son efectivos contra microorganismos diferentes.

Como la acción de los polipéptidos está estrechamente relacionada con los iones metálicos que existen naturalmente en el medio donde se desenvuelven, han surgido diversos estudios sobre la naturaleza de tales relaciones.

Es un hecho comprobado, que la bacitracina requiere de la presencia de iones metálicos divalentes, tales como Mn(II), Zn(II), Cd(II), Cu(II), Ni(II) y Co(II) para lograr una actividad antibacteriana efectiva. También se ha comprobado que forma compuestos de coordinación 1:1 con dichos iones, en los que se comporta como

un ligante tetradentado mediante dos átomos de nitrógeno y dos grupos carboxilo desprotonados. Con el Cu(II) forma un compuesto de geometría cuadrado plana y con el Ni(II) un compuesto de geometría tetraédrica distorsionada.

El efecto antibacterial de la gramicidina A se debe a que adopta una conformación tridimensional formando un dímero de estructura helicoidal, el cual forma un canal en la membrana de la célula infectante. El canal antibiótico formado por la gramicidina A permite el paso de cationes monovalentes exclusivamente, a través de la membrana desde el exterior a el interior de la célula. La gramicidina A puede estar como un dímero en membranas y como una doble hélice en solventes orgánicos, presentando cuatro diferentes estructuras dependiendo del número de residuos de aminoácido que por vuelta tiene. Las estructuras  $\beta^{4.4}$  y  $\beta^{6.3}$  la gramicidina de cadena simple y  $\alpha\beta^{5.6}$  y  $\alpha\beta^{7.2}$  la de doble hélice. La gramicidina A de estructura  $\alpha\beta^{7.2}$  se une a iones Cs(I), -- pues tiene un radio de canal antibiótico de 2.0 Å en el que fácilmente entra el ion Cs(I); se ha sugerido que los iones se enlazan en el carbono terminal del antibiótico. Con el Cs(I) tiene dos formas cristalinas: I y II. En la forma I los cristales son ortorrombicos y de

malla cerrada y en la forma II son casi tetragonales. También se ha comprobado que la gramicidina A en forma de dimerio interacciona con dos iones de Ca(II) formando un compuesto 1:1, sobre lo cual ha surgido una teoría de que éste obstruye el transporte de metales alcalinos, porque al ocupar el sitio de coordinación impide el paso de los otros iones.

Las polimixinas son moléculas antibióticas que contienen porciones tanto hidrofílicas como hidrofóbicas, y presentan (a un pH fisiológico) un comportamiento catiónico. Por lo cual no forman compuestos de coordinación con los metales sino que más bien compiten con ellos por los sitios receptores de la membrana celular.

## CAPITULO 4

### INTERACCION DE IONES METALICOS CON TETRACICLINAS

Las tetraciclinas se lograron aislar de varias especies de Streptomyces (Tabla 4.1), obtenidos de muestras de tierra examinadas.

Antibiótico	Origen
Clortetraciclina	<u>Streptomyces aureofaciens</u>
Demeclociclina	Mutante de <u>Streptomyces aureofaciens</u>
Doxiciclina	Derivado semisintéticamente. Por deshidratación y reducción química de oxitetraciclina.
Minociclina	Derivado semisintéticamente. Por metilación reductiva de la 7-nitro-6-dioxitetraciclina - obtenida de una especie de <u>Streptomyces</u> .
Oxitetraciclina	<u>Streptomyces riveus</u>
Tetraciclina	Derivado semisintéticamente de clortetraciclina. - También se ha obtenido de <u>Streptomyces aureofaciens</u> en un medio con nutrientes apropiados.

Todas las tetraciclinas están estrechamente relacionadas en cuanto a su estructura y su mecanismo de ac

ción, en consecuencia, sus propiedades antimicrobianas son esencialmente las mismas. El mecanismo de acción se discutió en el capítulo correspondiente (Cap. 2, - Sec. 2.1.1), donde se menciona que son inhibidores bacteriostáticos de la síntesis proteica que actúan en la subunidad 30S del ribosoma.

A las concentraciones sanguíneas que se alcanzan - en la terapia antibacteriana las tetraciclinas son bacteriostáticas, y a concentraciones más elevadas son bactericidas. Un importante componente de su toxicidad selectiva reside en sus diferentes formas de penetrar en las células bacterianas, y se acumulan tanto en las bacterias gramnegativas como en las grampositivas, mediante un proceso dependiente de energía.<sup>(6,41)</sup> Las células de los mamíferos que no están implicadas en la excreción del fármaco, no acumulan a estos antibióticos. - Las tetraciclinas pueden inhibir la síntesis de proteínas en las células en cultivo (de mamíferos), si su forma de penetrar en las células es facilitada por fármacos que alteran la permeabilidad de la membrana celular, tales como: la anfotericina B o la polimixina B. - Aún cuando se ha propuesto una forma particular de penetración para explicar parte de la toxicidad selectiva, es evidente que esto no se aplica a las rickettsias o a

las clamidias; ya que estos organismos crecen intracelularmente y, por tanto, deben ser más susceptibles que el proceso de síntesis proteica de las células del huésped. La resistencia de las bacterias a las tetraciclinas se debe a un mecanismo de captación disminuida del antibiótico. Generalmente, los microorganismos se hacen resistentes a todas las tetraciclinas, pero algunas cepas de Staphylococcus aureus permanecen sensibles a la minociclina.

El sistema numérico de anillos para las tetraciclinas, así como la estructura química de las seis tetraciclinas más estudiadas, se muestran en las figuras 4.1 y 4.2 respectivamente. Las seis tetraciclinas más utilizadas y estudiadas son las siguientes: clortetraciclina (CTC)(Fig. 4.2.a), demeclociclina (DEM)(Fig. 4.2.b), doxiciclina (DOX)(Fig. 4.2.c), minociclina (MIN)(Fig. 4.2.d), oxitetraciclina (UTC)(Fig. 4.2.e) y tetraciclina (TC)(Fig. 4.2.f).

Las tetraciclinas son moléculas anfotericas, y poseen tres sitios de ionización protónica:

- a) relacionado con la disociación del protón del ion dimetilamonio ( $C_4$ ),
- b) asociado con el sistema dicetona ( $C_{11}-C_{12}$ ),

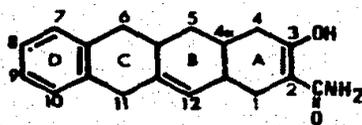


Fig. 4.1 Sistema numerico de anillos para las tetraciclinas.

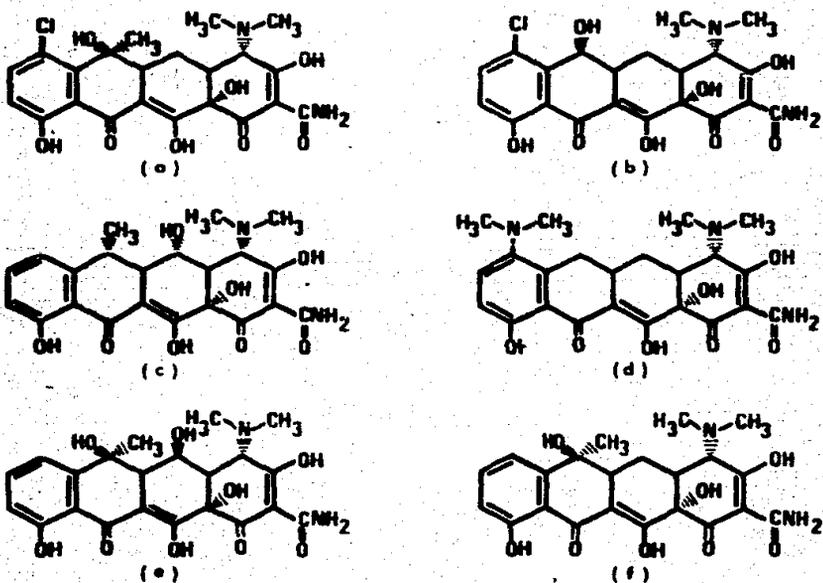


Fig. 4.2 a) Clortetraciclina. b) Demeclociclina. c) Doxociclina. d) Minociclina. e) Oxitetraciclina. f) Tetraciclina.

c) asociado con el sistema tricarbonilmetano con las posiciones  $C_1-C_2-C_3$ .

Debido a estos sitios potenciales de enlace, estas moléculas forman con facilidad compuestos de coordinación metálicos en solución, lo cual influye en su mecanismo de acción, ya que en fluidos biológicos este es dependiente en gran parte de ciertos iones metálicos. (42,43)

Las tetraciclinas son también sustancias cromógenas, cuyo grupo cromóforo está compuesto por los anillos BCD (Fig. 4.1), el cual es denominado "grupo cromóforo BCD".

#### 4.1 FARMACOLOGIA DE LAS TETRACICLINAS

##### 4.1.1 ABSORCIÓN, METABOLISMO Y EXCRECIÓN

Las tetraciclinas son absorbidas incompletamente desde el estómago y la vía gastrointestinal superior. Forman compuestos de coordinación estables con una serie de iones metálicos, tales como calcio, magnesio, hierro y aluminio. La formación de un compuesto insoluble con algunos de estos iones disminuye la absorción del antibiótico, lo cual sucede si las tetraciclinas

se administran con leche, productos lacteos, o con en  
tiácidos que contengan magnesio o hidróxido de alumi-  
nio, así como pequeñas dosis de hierro y sulfato ferro-  
so (6,10,43-45)

Las tetraciclinas se distribuyen en un espacio más  
amplio que el líquido corporal y penetran fácilmente en  
la mayoría de las cavidades orgánicas. Su concentra-  
ción en el plasma sanguíneo es mucho mayor que en el lí-  
quido cefalorraquídeo, ya que en las proteínas del plas-  
ma sanguíneo el fármaco se fija en cantidades que va-  
rían de un mínimo del 20 % con la oxitetraciclina a un  
máximo del 76 % con la minociclina. Mientras que su pe-  
netración en el líquido cefalorraquídeo no se ve afecta-  
da significativamente por la presencia de una inflama-  
ción meningea.

Farmacológicamente se considera que cuando un fár-  
maco se encuentra en el plasma sanguíneo, está consti-  
tuido de dos fracciones a saber (46):

- i. una fracción ligada a las proteínas que actúa como  
una reserva potencial,
- ii. una fracción que permanece libre y es considerada  
como farmacológicamente activa.

Debido a algunos aspectos de la distribución de

las tetraciclinas, han surgido otros usos para estos an  
tibióticos.(6) Como las tetraciclinas entran y son rete  
nidas en ciertas células neoplásicas, y por el hecho de  
que éstas fluorescen cuando son irradiadas por luz ultra  
violeta, pueden ser fácilmente visualizadas en prepara-  
dos histiológicos.

Se ha propuesto el uso de las tetraciclinas como -  
prueba citológica para el carcinoma gástrico, detectando  
la fluorescencia de las tetraciclinas en células tumora  
les recuperadas de lavados gástricos. En el diagnosti-  
co de tumores de la orofaringe, administrando el fárma-  
co oralmente y posteriormente observar la fluorescencia  
mediante iluminación ultravioleta in situ. Pero ningun-  
o de estos métodos ha resultado ser una ayuda clínica-  
mente útil en el diagnóstico, ya que suelen presentarse  
resultados negativos falsos. Las tetraciclinas también  
se retienen en el corazón, en áreas que han sido daña--  
das por la isquemia; retención que probablemente está -  
relacionada con la formación de un complejo entre el --  
fármaco y el calcio liberado de la células miocardiacas  
dañadas.

Se han realizado ensayos en animales con compues--  
tos de tetraciclina marcada con tecnecio, demostrando -

que pueden resultar clínicamente útiles para el diagnóstico y establecimiento del grado de los infartos del miocardio mediante la detección con técnicas de centelleo nuclear. Las tetraciclinas también son concentradas en el hígado y se secretan en la bilis, así como son igualmente concentradas por el riñón durante el proceso de excreción. Al ser acumulada por estos órganos, la tetraciclina marcada con tecnecio puede ser visualizada mediante centelleo nuclear. Por lo anterior, este compuesto puede resultar de utilidad clínica para propósitos de diagnóstico, como un agente productor de imágenes del riñón y del hígado.

Estas aplicaciones se basan en varias propiedades no relacionadas con el efecto antibacteriano de las tetraciclinas, y ofrecen el desarrollo y empleo de nuevos fármacos mediante el aprovechamiento de las propiedades farmacológicas particulares no involucradas en el uso ya establecido.

Las tetraciclinas se concentran en el hígado y los riñones de manera transitoria durante pocas horas, no así en el tejido óseo donde pueden estar secuestradas durante periodos de tiempo más largos.<sup>(6,43)</sup>

Las tetraciclinas muestran una fuerte afinidad por

sistemas mineralizados (óseo y dental), con un efecto - deteriorante, uniéndose al tejido en proceso de formación, pero aparentemente, no al que ya se ha constituido. El antibiótico es incorporado al tejido en proceso de calcificación en forma de un compuesto de tetraciclina-ortofosfato de calcio, enlazándose a los átomos de calcio del fosfato de calcio de los huesos; inhibiendo así la calcificación.

La incorporación de las tetraciclinas dentro del tejido duro dental durante su desarrollo resulta en defectos, tales como: decoloración del esmalte, e hipoplasia en la corona de los dientes en individuos a quienes se ha administrado tetraciclina en vida prenatal o durante la niñez.<sup>(6)</sup> La decoloración del esmalte dental puede variar, desde un color amarillento o pardusco a un color amarillento oscuro, que puede convertirse en marrón; proceso que se acelera por la exposición a la luz (el cambio en la coloración probablemente se debe a productos de fotooxidación formado a partir de las tetraciclinas)<sup>(6.12)</sup>

También pueden surgir problemas por la incorporación de las tetraciclinas en el tejido óseo, como es la disminución en la velocidad del crecimiento de los

huesos largos en niños prematuros sometidos a altas dosis de antibiótico.<sup>(6,43)</sup> En otros estudios, se ha observado que hay una reducción del peso fetal como resultado de la administración de tetraciclinas a la madre; pues, atraviesan la placenta y producen efectos teratógenos.<sup>(10,12)</sup>

Se ha visto que la oxitetraciclina fija el calcio con menor facilidad que las otras tetraciclinas, y se tienen evidencias de que su tendencia a producir una decoloración perceptible en las piezas dentales es menor.

Las tetraciclinas se purifican del plasma por el hígado y posteriormente se excretan por la bilis mediante un mecanismo de transporte activo. En la bilis su concentración puede ser de veinte a treinta veces mayor que en el plasma. Aún cuando son administradas por vía parenteral, se han encontrado en el intestino en altas concentraciones; lo que se debe a que parte del fármaco es liberada por la bilis hacia el intestino. Este es un hecho de considerable importancia, ya que puede producirse una enteritis en el intestino. Del fármaco liberado en el intestino por la bilis, gran parte es reabsorbida durante su paso por el resto de la vía gastrointestinal, y puede ser nuevamente purificada por el hígado.

do o excretada por el riñón en la orina mediante filtración glomerular, así como también en las heces fecales (6,10-12)

Algunas tetraciclinas son excretadas más lentamente que otras, ya que tienen tiempos de vida media diferentes (Tabla 4.2) (10)

Tabla 4.2 Tiempo de vida media de eliminación de las tetraciclinas.	
Antibiótico	$t_{1/2}$
Clortetraciclina	5-6 hs.
Demeclociclina	12-14 hs.
Doxiciclina	17-19 hs.
Minociclina	17-19 hs.
Oxitetraciclina	10 hs.
Tetraciclina	8-9 hs.

#### 4.1.2 INDICACIONES TERAPEUTICAS

Las tetraciclinas son antibióticos de amplio espectro que inhiben el crecimiento de muchas bacterias, actinomicetos, rickettsias, micoplasmas y clamidios. - También algunos protozoarios (Entamoeba histolytica y

Plasmodium falciparum) son sensibles.<sup>(6)</sup>

Actualmente, las tetraciclinas ya no se utilizan con la misma frecuencia que anteriormente debido a que se desarrolla resistencia a ellas, así como también a la introducción de fármacos bactericidas más específicos; por lo que son más comunmente empleadas como agentes alternativos para el tratamiento de infecciones bacterianas comunes cuando el antibiótico de primera elección es muy tóxico, o bien, cuando se presenta alergia a las penicilinas. Las infecciones bacterianas específicas en las cuales las tetraciclinas pueden considerarse como antibióticos de primera elección son muy pocas, pues, dichas infecciones son muy raras.

Las tetraciclinas son antibióticos de primera elección en infecciones como: el cólera (Vibrio cholerae), el glaucoma inguinal (Calymmatobacterium granulomatis), la fiebre recurrente (Borrelia recurrentis), la fiebre de Malta (Brucella melitensis), la brucelosis bovina -- (Brucella abortus) y la brucelosis porcina (Brucella suis); en las brucelosis a veces se combinan con estreptomomicina. También son útiles en infecciones causadas por rickettsias como la fiebre manchada de las Montañas Rocosas, el tifus endémico recurrente o enfermedad de Brill, el tifus exantemático o murino, el tifus scrub o

rural, el tifus vesicular y la fiebre U; y por clamidios como el linfogranuloma venereo, psitacosis, ornitosis, -tracoma, conjuntivitis de inclusión y queratoconjuntivi-  
tis. A la tetraciclina se le considera útil en el tra-  
tamiento de la pulmonía debida a Mycoplasma pneumoniae,  
y todas las tetraciclinas son muy empleadas contra el -  
acné vulgar severo crónico.

#### 4.1.3 EFECTOS SECUNDARIOS

Las dosis terapéuticas de las tetraciclinas han si-  
do establecidas como cercanas a la toxicidad, y presen-  
tan efectos adversos, los cuales se mencionan a conti-  
nuación.

Las tetraciclinas son potencialmente nefrotóxicas  
y pueden causar hepatotoxicidad, especialmente en pa-  
cientes con insuficiencia renal y hepática.

Todos los antibióticos de este grupo pueden causar  
fototoxicidad manifestada en forma de reacciones anorma-  
les de quemaduras del sol o parestesias (sensación de -  
hormigueo) en las partes expuestas, reacciones que son  
rapidamente reversibles.

## 4.2 ESTUDIOS REALIZADOS SOBRE LA INTERACCION DE IONES METALICOS CON LAS TETRACICLINAS

Como ya se comentó anteriormente (Cap. 2, Sec. 2.2) el interes por los antibióticos como ligantes, ha sido motivo de numerosos estudios sobre todo en el caso de las tetraciclinas y su afinidad por los iones metálicos y las interacciones con éstos. Las tetraciclinas se encuentran involucradas en diferentes procesos, tales como efectos destructivos de tejidos mineralizados (Sec. 4.1.1), en la inhibición de la coagulación sanguínea, la disminución que presentan en su actividad antibacterial y su absorción gastrointestinal; debido a la formación de compuestos metálicos.

Los estudios llevados a cabo pueden dividirse en clínicos y químicos, los cuales sirven de apoyo unos a otros.

### 4.2.1 ESTUDIOS CLINICOS

Los estudios clínicos consideran que la acción de las tetraciclinas en el organismo depende de su biodisponibilidad, la cual es la medida de la cantidad de fárm

maco que llega a la circulación general y la velocidad a la cual esto ocurre; o que la molécula de antibiótico posea una hidrosolubilidad suficiente - para poder permanecer en solución en el fluido intestinal, y al mismo tiempo sea lo suficientemente liposoluble para poderse difundir a través de las membranas celulares.<sup>(47)</sup>

La presencia de metales no solo influye sobre la absorción y la actividad de las tetraciclinas - sino también sobre su biosíntesis, pues un estudio demostro que en la presencia de hierro varios cultivos de Streptomyces aureofaciens se esforzaron por producir más TC, biosíntesis que también se ha visto mejorada por sales de magnesio; mientras que la presencia (aún en cantidades traza) de litio, molibde no, wolframio, cobalto, cinc, boro y aluminio inhiben la producción del antibiótico.<sup>(48)</sup>

De mayor importancia es el hecho de que la absorción de las tetraciclinas se ve afectada porque en el tubo digestivo forman compuestos insolubles - con sales metálicas,<sup>(10)</sup> lo cual a su vez inhibe la absorción de elementos necesarios para el organismo humano.

Bajo este interés se han realizado estudios que han llevado a diversas conclusiones de utilidad médica. Por ejemplo, hoy en día se sabe que la absorción de sales de hierro se ve inhibida por la administración de TC, DOX y MIN (Fig. 4.2),<sup>(44-45)</sup> lo cual se atribuye a la formación de compuestos entre el antibiótico y los iones ferrico y ferroso. La formación de estos compuestos ha sido comparada in vitro, siendo más estables los compuestos de Fe(III) que los de Fe(II).<sup>(43)</sup>

Estudios realizados en voluntarios, mostraron -- que el sulfato de cinc afecta la absorción intestinal de la TC reduciendola en un 30 % aproximadamente; pero, no tiene efecto sobre la DOX.<sup>(49)</sup>

La absorción de las tetraciclinas se ve afectada por la presencia de iones metálicos, lo que a su vez origina una menor concentración de éstas en el plasma, por tanto la actividad antibacteriana del fármaco se verá disminuida.<sup>(43)</sup> Así mismo, la baja absorción de iones metálicos puede provocar desajustes o enfermedad,<sup>(45)</sup> como también la presencia de las tetraciclinas en el torrente sanguíneo puede distorsionar o modificar algunos procesos naturales.<sup>(9)</sup>

Por ejemplo, la coagulación sanguínea puede verse inhibida por el uso de tetraciclinas.<sup>(9,50)</sup> La coagulación sanguínea tiene como finalidad ocluir los vasos rotos e impedir que se pierda en exceso el líquido vital. En esencia, es un mecanismo por el cual el fibrinógeno (proteína sanguínea soluble) se convierte en fibrina -- (proteína sanguínea insoluble), mediante los tres pasos siguientes (Fig. 4.3):

1. Formación de protrombinasa.
2. Formación de trombina.
3. Formación de fibrina.

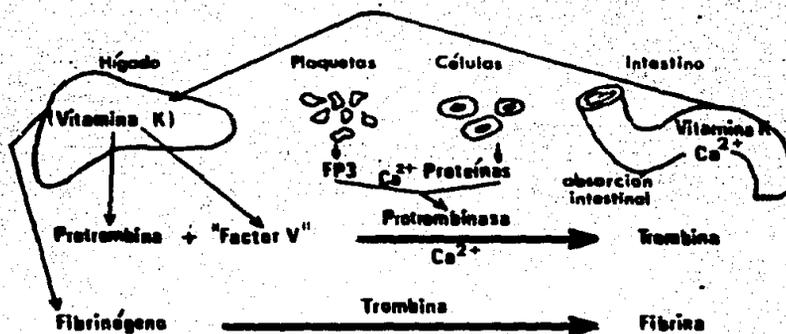
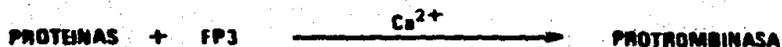


Fig. 4.3 Esquema de los pasos de la coagulación sanguínea.

### 1. Formación de protrombinasa.

Este paso consiste de varias reacciones químicas - aún no dilucidadas a fondo. Cuando las plaquetas se ponen en contacto con una superficie áspera tienden a disgregarse y liberan gránulos de una substancia llamada - factor plaquetario 3 (FP3), la cual reacciona con varias proteínas sanguíneas e iones  $\text{Ca(II)}$  para formar la enzima sanguínea (activa) "protrombinasa". Este paso - se puede resumir en la siguiente reacción:



### 2. Formación de trombina.

La protrombina (globulina compleja de la sangre) - se combina con la protrombinasa (formada en el paso anterior), una substancia llamada factor V e iones  $\text{Ca(II)}$  para formar la trombina. La síntesis de protrombina es catalizada por la vitamina K, y se lleva a cabo en las células hepáticas. Este paso se resume en la reacción:



### 3. Formación de fibrina.

El fibrinógeno (proteína sanguínea sintetizada por las células hepáticas) por efecto de la trombina (forma

da en el paso anterior) es transformado en fibrina.



Se ha propuesto que las tetraciclinas quelatan a los iones  $\text{Ca(II)}$  presentes en el plasma sanguíneo, interfiriendo con los pasos 1 y 2 (1 mayormente que 2), impidiendo así la formación de fibrina e inhibiendo la coagulación sanguínea.

Lo anterior es apoyado por otros estudios, como es el caso de uno realizado con ovejas, en el cual se obtuvo que a los 3 minutos de la administración intravenosa de OTC se disminuía la concentración de calcio ionizado en sangre.<sup>(51)</sup> Pero, la inhibición de la coagulación sanguínea causada por la administración de tetraciclinas, solo sucede en pacientes bajo tratamientos muy prolongados.

Generalmente los iones metálicos se han considerado como antagonistas de la acción antibacteriana de las tetraciclinas. Por ejemplo, para Pseudomonas aeruginosa y Serratia marcescens se publicó un trabajo<sup>(52)</sup> en el que se observó mediante el método de disco simple que las zonas de inhibición son de menor diámetro cuando el medio de agar se ha ajustado con  $\text{Ca(II)}$  o con -

Mg(II), y se supone es debido a reacciones de coordinación de las tetraciclinas estudiadas (TC, DOX y MIN) -- con los iones Ca(II) y Mg(II); inhibiéndose la actividad en el siguiente orden decreciente: MIN > DOX > TC para S. marcescens y TC > DOX > MIN para P. aeruginosa. -- También se ha publicado que la acción antibiótica de la TC contra P. aeruginosa disminuye en la presencia de -- iones Fe(III) y Mn(II), que los iones Ca(II) y Mg(II) -- limitan la acumulación de TC en células de Bacillus cereus, y que el Mg(II) reduce la capacidad de la TC de enlazarse a tRNA aislado.<sup>(43)</sup>

Contraria e interesantemente se publica que un compuesto de Zn(II)-TC interacciona con el DNA.<sup>(43,53)</sup> Posteriormente otro nuevo estudio menciona que la TC forma compuestos de coordinación con Cu(II), Ni(II) y Co(II), los que también interactúan con el DNA, pero otros iones metálicos como Fe(II), Fe(III), Mn(II), Mg(II) y Ca(II) no producen estos efectos.<sup>(43)</sup> Lo que si ha sido plenamente demostrado es que cationes como Mg(II), Mn(II), Fe(II) y Fe(III) reducen los efectos antibacteriales de las tetraciclinas, especialmente sobre S. aureus y E. coli.<sup>(54)</sup>

Otro miembro importante de la familia de las tetraciclinas, la clortetraciclina (CTC)(Fig. 4.2.a) es cono

cida como un ionóforo de calcio selectivo y eficiente - que tiene la habilidad de discriminar entre calcio y -- magnesio, y presenta poca afinidad por otros iones de - metales alcalinoterreos y alcalinos. Tales condiciones sugirieron el uso de la CTC en el examen del papel del calcio en la función celular (como un marcador fluorescente para seguir el transporte de calcio en mitocondria, microsomas, reticulo sarcoplasmático y eritrocitos humanos),<sup>(55)</sup> así como para conocer el modo en que - las tetraciclinas se transportan a través de la membrana bacterial.<sup>(43)</sup> Lo que se ha podido establecer es que la CTC enlaza iones Ca(II) o Mg(II) antes de que sean - transportados a la región apolar de la membrana.

Estudios posteriores llevaron a la conclusión de - que la prueba misma no induce a una redistribución del calcio, ya que las propiedades ionoforéticas de la CTC dan esta posibilidad, por lo cual se debe tener precaución al emplear la CTC en este tipo de estudios.<sup>(56)</sup>

#### 4.2.2 ESTUDIOS QUIMICOS

Los estudios químicos se pueden dividir en:

- i. Estudios en solución.
- ii. Estudios en estado sólido.

### iii. Estudios por simulación.

#### i. Estudios en solución.

En los estudios en solución se emplean diversas técnicas de análisis: métodos de fluorescencia,<sup>(57-59)</sup> valoración del pH,<sup>(57,62,63)</sup> absorción ultravioleta,<sup>(60-62,66)</sup> polarografía<sup>(64)</sup> y dicroísmo circular (DC).<sup>(65)</sup>

Para estudiar la formación de compuestos de TC con iones metálicos se ha aprovechado la influencia de diversos iones metálicos polivalentes (Mg, Al, Be, Ga, Sc y Zr) sobre la fluorescencia de la TC en solución acuosa, empleando métodos espectrofotométricos y calculando el pH óptimo de formación de los compuestos.<sup>(57)</sup> Obteniendo que la relación metal-antibiótico es de 6:1 para los iones Be(III), Al(III), Zr(IV) y Sc(III) a un pH óptimo de 6.3, y de 1:1 para los iones Mg(II), Ga(III) y Sc(III) a un pH óptimo de 4.5. Los compuestos 6:1 forman polímeros cíclicos de coordinación en los que se incrementa la intensidad de la fluorescencia, mientras que en los compuestos 1:1 se observa solamente una leve intensidad de luminiscencia.

Tomando como base los resultados anteriores se pro-

puso la aplicación práctica de los mismos, en métodos para la determinación de berilio y aluminio en broncas<sup>(57)</sup> y métodos para determinar TC en materiales biológicos como el suero por medición de la fluorescencia de compuestos con aluminio.<sup>(57,58)</sup>

Los espectros de fluorescencia de la OTC y la CTC también se ven afectados por la presencia de iones - Mg(II), Ca(II) y Ba(II), debido a la formación de compuestos de coordinación; la fluorescencia naranja-amarillo típica de los derivados de TC cambia a amarillo-verde. Los compuestos de Mg(II) son más estables que los de Ca(II) y Ba(II), lo mismo que los compuestos de CTC presentan mayor estabilidad que los de OTC.<sup>(59)</sup>

Gracias a las técnicas analíticas de espectroscopía de absorción ultravioleta y espectrofotometría, existe información sobre los compuestos de OTC con Mg(II) y Ca(II). Se publica que tienen la relación estequiométrica 1:1 al igual que los compuestos formados con - Fe(II), Zn(II)<sup>(60)</sup> y Ca(III),<sup>(61)</sup> mientras que los formados con Cu(II) y Ni(II) tienen la relación 2:1; y los compuestos 2:1 son más estables que los compuestos 1:1.<sup>(60)</sup> Pero un estudio posterior, en el cual se utilizan técnicas de espectrofotometría y valoración del pH, publica que el compuesto de Cu(II)-OTC tiene una rela

ción estequiométrica 1:2, y que se trata de un compuesto único. También se menciona la formación de un compuesto de Fe(III)-OTC con una relación 1:3, que igualmente es único.<sup>(62)</sup>

Se ha determinado que los cationes Cu(II) y Zn(II) forman compuestos de coordinación con la TC·HCl y la DOX·HCl. Los compuestos formados,  $CuL_2Cl$  y  $ZnL_2Cl$ , son de geometría octaédrica y se dice que el metal se coordina a los grupos C=O del anillo A del antibiótico.<sup>(63)</sup> Trabajos polarográfico<sup>(64)</sup> y de DC<sup>(65)</sup> publican la formación de compuestos de TC con Cu(II) en un intervalo de pH dado ( $1.4 < pH < 4.9$ ) y, con Cd(II) y Pb(II) ( $3.0 < pH < 6.95$ ), también válido para la CTC.<sup>(64)</sup> A un pH de 7 la TC forma un compuesto 1:2 con el Ni(II), pero a un pH de 9.23 éste tiene la relación 2:1; ambos compuestos se hacen insolubles en presencia de Al(III).<sup>(65)</sup>

El informe más reciente sobre la formación de compuestos coloridos de TC, DEM, DOX, MIN y OTC con iones de Fe(III), Co(II), Cu(II) y Ni(II) dice, que de manera general los compuestos son formados con liberación de un protón y tienen el tipo 1:1. Estas cinco tetraciclinas forman los compuestos con mayor o menor facilidad según el siguiente orden decreciente: Fe(III) > Cu(II) > Ni(II) > Co(II). Sin embargo, MIN, DEM y DOX dan com--

puestos de coordinación más estables con Cu(II), Ni(II) y Co(II) que OTC y TC, pero, para el Fe(III) sucede lo inverso.<sup>(66)</sup>

## ii. Estudios en estado sólido.

Las estructuras químicas y las conformaciones que adoptan las tetraciclinas cuando forman compuestos de coordinación, influyen en la actividad biológica de éstas. Los estudios en este campo tratan de responder a la interrogante de porque y como influyen estos cambios estructurales.

La interacción de las tetraciclinas con algunos iones metálicos es cada vez más evidente, ya que los derivados de tetraciclina biologicamente activos muestran la capacidad de tener sitios activos para la formación de compuestos de coordinación con iones metálicos.

Se ha demostrado que la formación de compuestos metálicos aumenta la estabilidad de los derivados de tetraciclina, aun cuando se reduce su capacidad para entrar al torrente sanguíneo.

Se ha propuesto que la velocidad de transporte del fármaco puede ser influenciada por la habilidad de las tetraciclinas de someterse a cambios conformacionales. Dos conformaciones han sido establecidas en el estado sólido, por cristalografía de rayos X,<sup>(67)</sup> la conformación A (Fig. 4.4.a) y la conformación B (Fig. 4.4.b). La conformación A ocurre para las formas hidratadas de TC y OTC, las cuales son zwitteriones (moléculas iónicas dipolares) en el estado sólido y en las especies más ácidas de sales de tetraciclinas. La conformación B ocurre para OTC anhidra y otros derivados zwitteriónicos. Las conformaciones A y B pueden ser interconvertidas por rotación alrededor del enlace C<sub>12</sub>-C<sub>4</sub>.



Fig. 4.4 Cambios conformacionales  $A \rightleftharpoons B$ . a) Conformación A. b) Conformación B.

Se han realizado estudios de DC y de RMN en los cuales se ha comprobado que la TC en solución de dimetilsulfoxido se somete a un cambio conformacional cuando se adiciona  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  o  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$  anhidros, desplazando el equilibrio  $\text{A} \rightleftharpoons \text{B}$  hacia la izquierda. Pues aparentemente los cationes  $\text{Ca}(\text{II})$  y  $\text{Mg}(\text{II})$ , enlazan a la TC en conformación A. La aparente diferencia entre los dos compuestos esta en el tiempo de vida más corto que presenta el compuesto de  $\text{Ca}(\text{II})$ . Resultados similares se han obtenido en el espectro de DC de la TC con la adición de  $\text{La}(\text{NO}_3)_2$ .<sup>(67)</sup>

En el espectro de absorción de la OTC se ha observado que hay una desviación en el máximo de absorción de la longitud de onda en función del pH, lo cual se interpreta como una afectación gradual del cromóforo BCD por pérdida del segundo protón en la desprotonación total de la OTC en su forma de base libre (Fig. 4.5). En contrandose que cuando el cromóforo BCD es protonado - por completo muestra la forma tautomérica I (Fig. 4.6), tautómero que es claramente favorecido por un fuerte enlace de hidrógeno intramolecular entre el grupo carbonilo  $\text{C}_{11}$  y los grupos  $\beta$ -oxhidrilo  $\text{C}_{10}$  y  $\text{C}_{12}$ . En contraste, cuando el cromóforo BCD esta cargado negativamente (anion) muestra la forma tautomérica II (Fig. 4.6).<sup>(68)</sup>

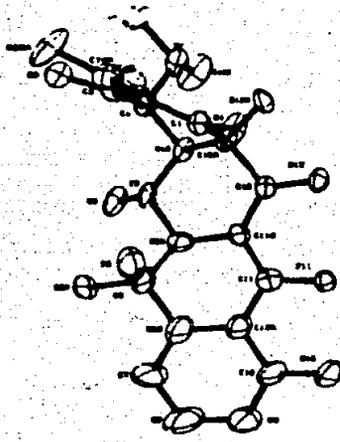


Fig. 4.5 Proyección estereoscópica de la oxite tetraciclina en su forma de base libre.

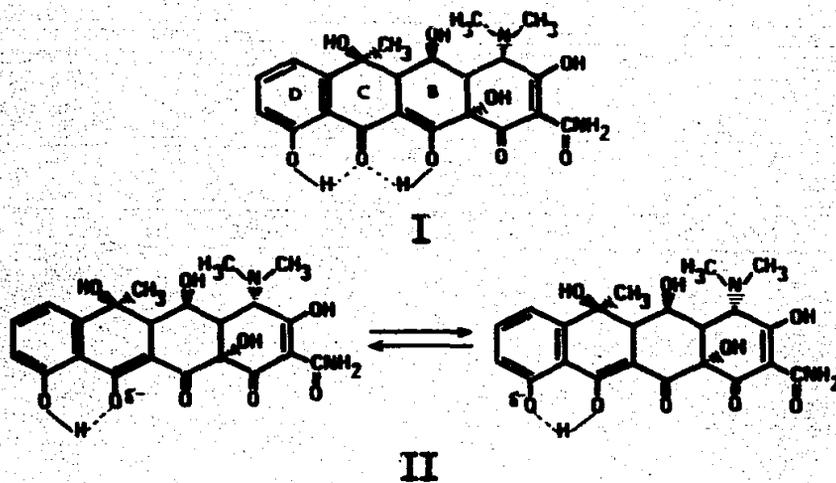


Fig. 4.6 Tautómeros del cromóforo BCD de la oxite tetraciclina.

La OTC zwitterionica se coordina al cloruro mercúrico (electricamente neutro), para formar un compuesto con la formula  $[(OTC)HgCl_2 \cdot 2H_2O]$ . El ligante en el compuesto de coordinación, utiliza átomos de oxígeno solamente del tricarbonilmetano ( $C_1-C_2-C_3$ ) del anillo A, formando enlaces covalentes débiles con el átomo central de mercurio (Fig. 4.7). El ligante en general y particularmente el cromóforo BCD, es virtualmente inalterado por la formación del compuesto.<sup>(68)</sup>

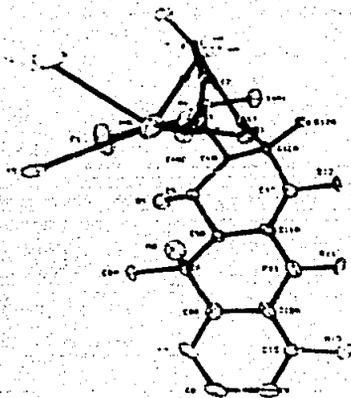


Fig. 4.7 Proyección estereoscópica del compuesto de oxitetraciclina zwitterionica - con cloruro mercúrico.

La OTC forma una sal con el potasio, cuyos cristales contienen tres iones de K(I) simétricamente independientes, distribuidos planarmente en una forma tal que les permite ser emparejados entre dos aniones moleculares de OTC paralelos y simétricos. Dos de los iones de potasio están sobre un eje cristalográfico doblemente simétrico, interactuando ambos tanto con el tricarbonilmetano del anillo A (el oxígeno  $O_1$ ) como con el cromóforo BCD (los oxígenos  $O_{12}$  y  $O_{12\alpha}$  el  $K_1$ , y  $O_{11}$  y  $O_{12}$  el  $K_2$ ), de ambas moléculas de OTC. El tercer ion de potasio es coordinado a átomos de oxígeno ( $O_1$  y  $O_{2\alpha}$ ) del tricarbonilmetano del anillo A de una de las moléculas de OTC y a los oxígenos ( $O_{11}$  y  $O_{12}$ ) del cromóforo BCD de la otra molécula colocada simétricamente.<sup>(68)</sup>

### iii. Estudios de simulación.

De entre los varios trabajos sobre el comportamiento de las tetraciclinas y sus interacciones con los iones metálicos en plasma sanguíneo, destacan una serie de estudios potenciométricos<sup>(43,46,47)</sup> realizados bajo condiciones experimentales que semejaban al plasma -- sanguíneo: 37 °C en un medio acuoso de cloruro de sodio 0.015 mol/dm<sup>3</sup> y complementadas con simulaciones por com

putadora.

Las simulaciones fueron basadas en:

1. Una determinación experimental de las constantes de estabilidad de todos los compuestos formados, seme-  
jando las condiciones fisiológicas.
2. El uso de modelos computacionales apropiados.

Debido a que el ion calcio es el ion metálico más concentrado en varios fluidos biológicos, entre los que figura el plasma sanguíneo (quizá el más importante); estos estudios se enfocan a las interacciones del calcio<sup>(43,47)</sup> y a las de otro ion de menor concentración, el magnesio, pero de gran importancia también.<sup>(46)</sup>

En el estudio experimental de la formación de com-  
puestos de coordinación entre el ion calcio o el ion  
magnesio y cuatro tetraciclinas (DOX, MIN, DTC y TC) -  
(Fig. 4.2) semejando las condiciones plasmáticas y con-  
siderando la presencia del protón; se propone la forma-  
ción de compuestos de coordinación del tipo:  $ML_2H_2$ ,  
 $ML_2H$ ,  $MLH$ ,  $M_2L$ ,  $ML_2$  y  $ML$ . Para las varias especies for-  
madas se determinaron las constantes de formación en un  
rango de pH ( $3 \leq \text{pH} \leq 9$ ).

Las constantes de estabilidad fueron determinadas  
mediante un calculo refinado en un programa computacio

nal utilizando los resultados de las observaciones experimentales, y posteriormente se usaron para la simulación de la distribución de los varios compuestos de Ca(II)-antibiótico y de Mg(II)-antibiótico en el plasma sanguíneo humano después de su administración.

Los resultados obtenidos dieron como conclusión una cierta semejanza entre el comportamiento de la formación de los compuestos de calcio con TC y OTC, así como entre la formación de los compuestos de calcio con DOX y MIN (Tabla 4.3).

En el caso de los sistemas con TC y OTC (Fig. 4.8, tomando como ejemplo el sistema Ca(II)-TC), la coordinación del metal es insignificante hasta un pH de 5, pero a pH 7 se alcanza un nivel máximo para la concentración del compuesto  $ML_2H_2$  muy superior a la de las otras especies ( $M_2L$ ,  $ML_2H$  y  $ML_2$  para la TC; y  $ML$ ,  $M_2L$ ,  $ML_2$  y  $ML_2H$  para la OTC). A un pH mayor de 7 comienza a predominar la formación de  $M_2L$  para la TC y la de  $ML$  para la OTC, lo que marca una diferencia en su comportamiento.

Mientras que para los sistemas con DOX y MIN (Fig. 4.9, tomando como ejemplo el sistema Ca(II)-DOX), la coordinación del metal es ya perceptible a pH 5 al for-

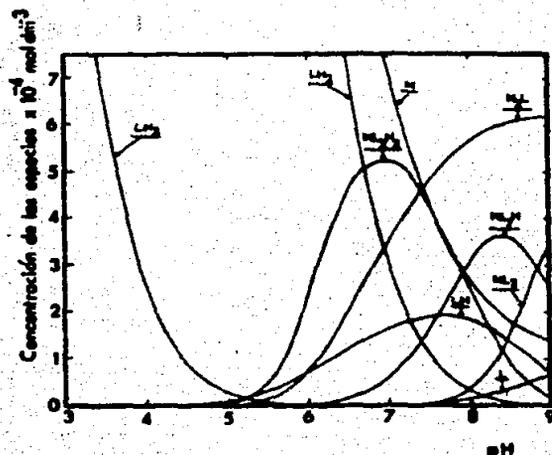


Fig. 4.8 Representación gráfica de la distribución de las especies formadas en el sistema Ca(II)-tetraciclina.

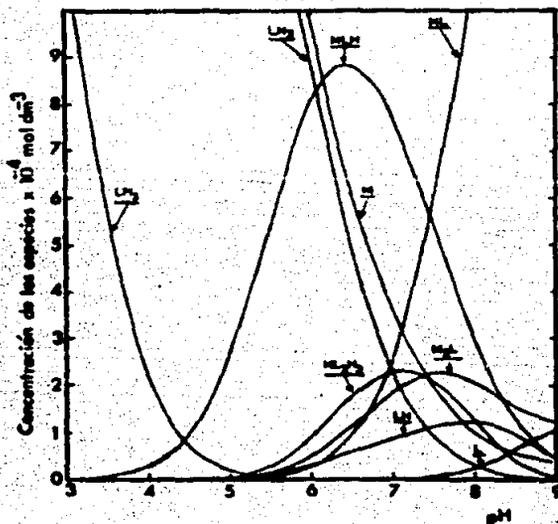


Fig. 4.9 Representación gráfica de la distribución de las especies formadas en el sistema Ca(II)-doxiciclina.

marse la especie  $MLH$  la cual alcanza su máxima concentración a pH: 7 sobre las otras especies ( $ML$ ,  $ML_2H_2$  y  $M_2L$  para la DOX; y  $ML$  y  $ML_2H_2$  para la MIN), pero al ir aumentando el pH la especie que va en predominio es  $ML$ . Las otras especies de coordinación existentes en concentraciones mínimas varían en función del pH.

Para la DOC y la MIN las especies protonadas son insignificantes, 3 y 5 % respectivamente, debido a que la DOX y la MIN coordinan el  $Ca(II)$  a un pH más bajo que la OTC y la TC; y para la MIN la especie  $M_2L$  está ausente mientras que para las otras tetraciclinas se forma en un porcentaje relativamente alto.

El examen de estas distribuciones sugirió que des pues de administradas, las tetraciclinas se pueden consi derar como coordinadas casi en su totalidad por los iones  $Ca(II)$  normalmente presentes en el plasma, aun cuando las simulaciones no toman en cuenta las interacciones de otros ligantes de bajo peso molecular presen tes en el medio, ni tampoco la fracción de antibiótico que se une a las proteínas, ni las interacciones que las tetraciclinas pueden sufrir con otros iones metálicos; ya que en plasma sanguíneo normal la concentración de  $Ca(II)$  residual en cada caso es muy grande (en exce so) con respecto a las tetraciclinas en dosis terapéuti

cas, consecuentemente la concentración de antibiótico libre es siempre insignificante con respecto al total, lo cual influye en la consideración de la difusión de las tetraciclinas por el torrente sanguíneo hacia los tejidos del medio.

Las simulaciones de las interacciones de las cuatro tetraciclinas (TC, OTC, DOX y MIN) con el calcio en las condiciones fisiológicas, muestran que la influencia del metal frente al antibiótico es muy importante para las tetraciclinas en el plasma sanguíneo.

En los sistemas Mg(II)-antibiótico, la formación de los compuestos de coordinación tienen un comportamiento similar para los compuestos de magnesio con OTC y TC, así como para los de magnesio con DOX y MIN; presentándose un comportamiento distinto al que fue observado en la coordinación con calcio (Tabla 4.3).

La especie  $ML_2$  existe en la presencia de TC y OTC pero no con DOX y MIN. Se observa una alta concentración de iones Mg(II) libres para los sistemas de OTC y TC lo cual implica poca afinidad del antibiótico por los iones, mientras que para DOX y MIN la concentración de los compuestos formados es mayor (Figs. 4.10 y 4.11, tomando como ejemplos los sistemas Mg(II)-TC y Mg(II)-DOX respectivamente).

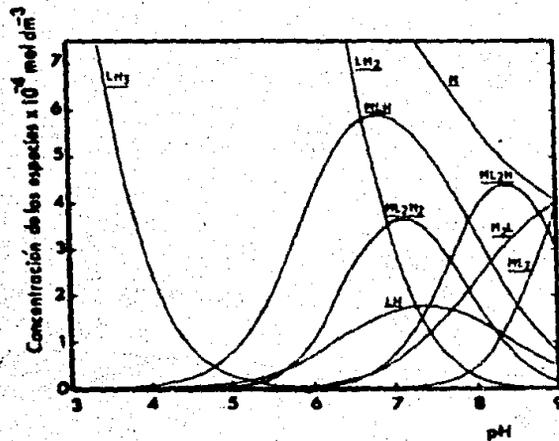


Fig. 4.10 Representación gráfica de la distribución de las especies formadas en el sistema Mg(II)-tetraciclina.

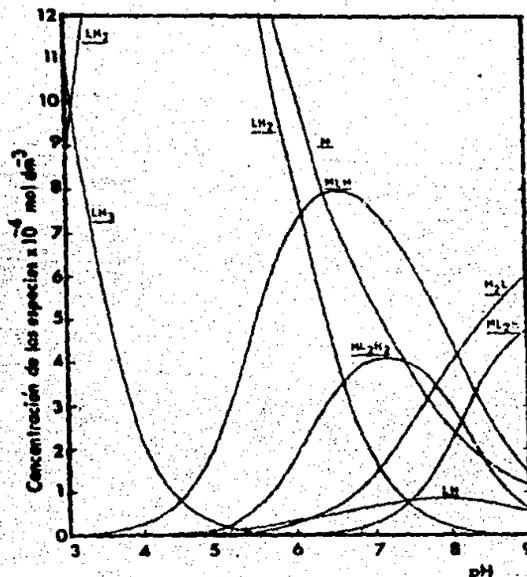


Fig. 4.11 Representación gráfica de la distribución de las especies formadas en el sistema Mg(II)-doxiciclina.

Aún cuando el ion  $Mg(II)$  existe en más baja concentración que el ion  $Ca(II)$ , esta en mayor concentración que los metales traza pertenecientes al plasma, y puede por lo tanto jugar un papel similar al del  $Ca(II)$  en la distribución de las tetraciclinas. El interés de las interacciones del  $Mg(II)$  con las tetraciclinas se debe a que probablemente es el compuesto de magnesio formado con el antibiótico, el que interactúa con el ribosoma durante la inhibición de la síntesis de proteínas (46-47)

Como en los estudios mencionados solo se considera la presencia de  $Ca(II)$  o  $Mg(II)$  aisladamente, posteriormente los mismos autores realizaron un trabajo con la mezcla de los dos iones metálicos y las cuatro tetraciclinas estudiadas anteriormente (DOX, MIN, OTC y TC) (69)

Algunas de las especies formadas son eléctricamente neutras (son las que probablemente se difunden dentro de los tejidos), y el resto están eléctricamente cargadas (las que son fácilmente excretadas en la orina).

Se forman especies de compuestos de coordinación con el protón, el ion  $Ca(II)$ , el ion  $Mg(II)$  y con la

mezcla de Ca(II)-Mg(II) (Tabla 4.3). Se observa una variación en el comportamiento de las tetraciclinas, comparado con el que presentaron con los iones Ca(II) y Mg(II) solos. Con la TC se observaron especies no presentes con el ion Ca(II) solo, con la OTC no hay variación en cuanto a su comportamiento con Ca(II) y Mg(II) solos; pero ambas tetraciclinas forman la especie binuclear ( $\text{CaMgL}^{2+}$ ). Con la DOX el comportamiento es muy similar al que presenta con los iones Ca(II) y Mg(II) solos, pero no hay formación de la especie que contiene ambos iones. La MIN presenta un comportamiento similar al que tiene con los iones Ca(II) y Mg(II) independientemente, y si forma la especie binuclear, pero protonada ( $\text{CaMgLH}^{3+}$ ); aún cuando ésta no esta en predominio como en el caso de la OTC.

Extendiendo estos estudios a la CTC, se obtuvo que forma compuestos con los iones Ca(II) y Mg(II) solos, pero no forma compuestos mixtos.<sup>(70)</sup>

Posteriormente estos mismos autores, realizaron un estudio similar sobre compuestos de coordinación de seis tetraciclinas (CTC, DEM, DOX, MIN, OTC y TC) con Cu(II). Se encontró que el Cu(II) no influye sobre la biodisponibilidad de las tetraciclinas, pero la presen-

Tabla 4.3 Resultados de las simulaciones de la distribución de las tetraciclinas y los compuestos que forman con  $H^+$ ,  $Ca^{2+}$  y  $Mg^{2+}$  en plasma sanguíneo (pH sanguíneo  $7.4 \pm 0.05$ ), durante tratamiento.

Antibiótico ( $L^{2-}$ )	Sistema $Ca(II)$ -antibiótico	Sistema $Mg(II)$ -antibiótico	Sistema $Ca^{+2}$ -antibiótico
TC	$Ca_2L^{2+}$ . . . (*) LH <sup>-</sup> LH <sub>2</sub> CaL <sub>2</sub> H <sub>2</sub> CaL <sub>2</sub> H <sup>-</sup>	$MgLH^+$ . . . (*) LH <sup>-</sup> LH <sub>2</sub> $Mg_2L^{2+}$	$Ca_2L^{2+}$ . . . (*) CaMgL <sup>2+</sup> MgLH <sup>+</sup> $Mg_2L^{2+}$ LH <sup>-</sup> CaL <sub>2</sub> H <sub>2</sub> LH <sub>2</sub>
OTC	$Ca_2L^{2+}$ . . . (*) CaL LH <sup>-</sup> LH <sub>2</sub> CaL <sub>2</sub> H <sub>2</sub> CaL <sub>2</sub> H <sup>-</sup>	$Mg_2L^{2+}$ . . . (*) MgL LH <sup>-</sup> $Mg_2L^{2-}$ $Mg_2LH^{3+}$ LH <sub>2</sub> $Mg_2LH^-$	$CaMgL^{2+}$ . . . (*) $Ca_2L^{2+}$ $Mg_2LH^{3+}$ $Mg_2L^{2+}$ LH <sub>2</sub> MgL    CaL <sub>2</sub> H <sub>2</sub> CaL $Mg_2LH^-$ LH <sup>-</sup>
DOX	$CaLH^+$ . . . (*) CaL $Ca_2L^{2+}$ CaL <sub>2</sub> H <sub>2</sub> LH <sub>2</sub> LH <sup>-</sup>	$MgLH^+$ . . . (*) $Mg_2L_2H_2$ $Mg_2L^{2+}$ $Mg_2L_2H_2$ LH <sup>-</sup> LH <sub>2</sub>	$Ca_2L^{2+}$ . . . (*) $CaLH^+$ CaL MgLH <sup>+</sup> $Mg_2L^{2+}$ LH <sup>-</sup> LH <sub>2</sub>
MIN	$CaLH^+$ . . . (*) CaL CaL <sub>2</sub> H <sub>2</sub>	$MgL$ . . . (*) $Mg_2L_2H_2$ MgLH <sup>+</sup> $Mg_2LH^{3+}$ LH <sub>2</sub> LH <sup>-</sup>	$CaLH^+$ . . . (*) CaL CaMgLH <sup>3+</sup> LH <sub>2</sub> MgL    LH <sup>-</sup> MgLH    CaL <sub>2</sub> H <sub>2</sub> $Mg_2LH^{3+}$
(*) especie predominante Todas las especies cuyo porcentaje es inferior al 0.1 % han sido omitidas.			

cia de alguna de las tetraciclinas tiende a favorecer -  
la absorción de Cu(II).<sup>(71)</sup>

## RESUMEN

Las tetraciclinas son un grupo de antibióticos ais-  
lados de varias especies de Streptomyces, estrechamente  
relacionados por su estructura. Las más usadas son: -  
CTC, DEM, DOX, MIN, OTC y TC. El mecanismo de acción  
de las tetraciclinas es muy similar para todos los miem-  
bros del grupo, y consiste en inhibir la biosíntesis de  
proteínas actuando sobre la subunidad 30S del ribosoma.

Las tetraciclinas son moléculas cromóforas que pre-  
sentan una gran afinidad por los iones metálicos, lo  
que ocasiona que al ser administradas se vean involucra-  
das en distintos procesos, tales como la coagulación -  
sanguínea, la destrucción de tejidos mineralizados (den-  
tal y óseo) y disminución en su absorción gastrointesti-  
nal (que como consecuencia ocasiona una disminución en  
su actividad antimicrobiana).

Los estudios realizados sobre las tetraciclinas y  
su relación con los iones metálicos indican que desde  
su absorción gastrointestinal se ven influenciadas por

la presencia de éstos, al ser administradas por vía oral; por lo que no deben ingerirse junto con leche o productos lácteos, antiácidos y dosis de  $\text{FeSO}_4$ , o cualquier alimento que contenga minerales en cantidades considerables.

Al llegar las tetraciclinas al torrente sanguíneo también interactúan con los iones metálicos presentes, por ejemplo, con el  $\text{Ca(II)}$  (ion de mayor concentración), ocasionando una interferencia en el proceso de coagulación.

Otro problema que acompaña a el uso de estos fármacos es que muestran una marcada afinidad por los tejidos mineralizados, como resultado de su interacción con los iones metálicos como el  $\text{Ca(II)}$ .

Consecuentemente al ver disminuida su concentración como moléculas libres activas, su efecto sobre las bacterias disminuye. Se ha comprobado, in vitro, que cationes como  $\text{Mg(II)}$ ,  $\text{Mn(II)}$ ,  $\text{Fe(II)}$  y  $\text{Fe(III)}$  reducen el efecto antibacteriano de las tetraciclinas.

Estudios químicos sobre las tetraciclinas y su interacción con iones metálicos, han demostrado que forman compuestos de coordinación con varios cationes como

Mg(II), Ca(II), Fe(II), Zn(II), Cu(II), Ni(II), Co(II),  
Ba(II), Ce(III), Ga(III), Sc(III), Al(III), Be(III) y -  
Zr(IV); pero, el comportamiento que los compuestos for-  
mados presentan es variado y depende de: el ion metálico,  
el pH y la relación estequiométrica.

## CAPITULO 5

### INTERACCION DE IONES METALICOS CON OTROS ANTIBIOTICOS

Recordando la definición formal de antibiótico - (Cap. 2: son sustancias químicas producidas por microorganismos, que tienen la capacidad de inhibir el crecimiento o de destruir a las bacterias o a otros microorganismos), se podría pensar que estas sustancias se utilizan únicamente para atacar microorganismos infectantes; pero, existen antibióticos que han despertado gran interés debido a su actividad en diversos tumores humanos. La bleomicina es uno de estos antibióticos antineoplásicos, que posee la capacidad de formar compuestos de coordinación con iones metálicos e incluso estos iones le son necesarios para el desarrollo de su actividad. Motivo por el cual se ha elegido la bleomicina como uno de los antibióticos a tratar en este capítulo.

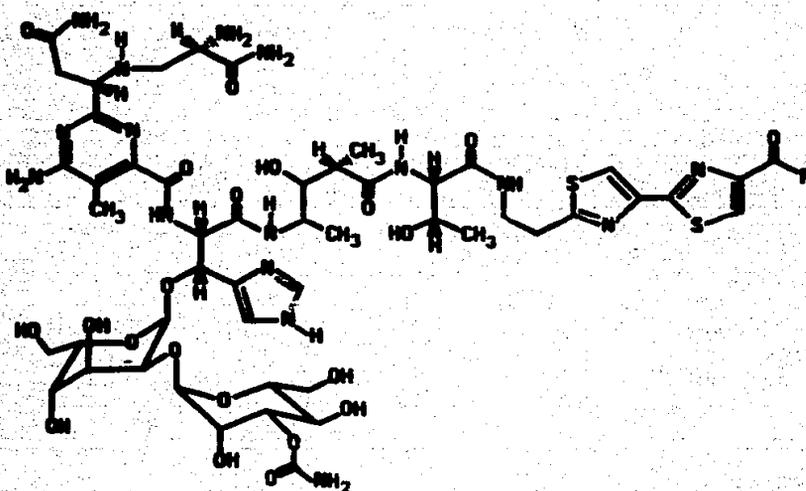
Esta definición también hace la distinción entre los antibióticos de origen microbiano y aquellas sustancias sintetizadas químicamente sin ninguna relación con las primeras. Pero como también se comentó en un principio, esta distinción es principalmente académica, pues es muy común designar como antibiótico a ambos grupos de sustancias. Por esta razón y por la importan-

cia que tiene su uso dentro de la quimioterapia de las infecciones urinarias se ha seleccionado al ácido nalidíxico y sus análogos (familia de antibióticos sintéticos) para ser tratados en este capítulo.

## 5.1 INTERACCION DE IONES METALICOS CON BLEOMICINA

La bleomicina (BLM) es un antibiótico glicopéptido obtenido como producto de la fermentación de Streptomyces verticillus, que originalmente fue obtenida como un compuesto de coordinación de BLM con cobre. La preparación de bleomicina utilizada clinicamente consiste de una mezcla de glucopeptido, principalmente dos agentes estrechamente relacionados, bleomicina A<sub>2</sub> (BLM-A<sub>2</sub>) (Fig. 5.1) en un 70 % y bleomicina B<sub>2</sub> (BLM-B<sub>2</sub>) (Fig. 5.1) en un 30 % (2,12,72,73)

El centro de la molécula de bleomicina es una estructura compleja que contiene un cromóforo de pirimidina unido a una propionamida, una cadena lateral de β-aminoalanina aminada y los azúcares L-glucosa y 3-O-carbamoil-D-manosa. También incluye una cadena lateral con los aminoácidos L-histidina y L-treonina, un residuo de metilvalerato y un ácido carboxílico de bitiazol, la amina terminal se acopla por una amida a este ácido car



Bleomicina	R
A <sub>2</sub>	$-\text{NH}(\text{CH}_2)_3-\text{S}(\text{CH}_3)_2$
B <sub>2</sub>	$-\text{NH}(\text{CH}_2)_4-\text{NH}-\text{C}(\text{CH}_3)_2$

Fig. 5.1 Bleomicina A<sub>2</sub> y bleomicina B<sub>2</sub>.

boxflico.

La bleomicina ocupa un lugar importante en la quimioterapia debido a su actividad en diversos tumores humanos (aún cuando presenta efectos tóxicos sobre pulmón y piel, no son superiores a los de otros fármacos utilizados) y a un mecanismo de acción aparentemente

único. La BLM causa la fragmentación del DNA, al parecer, mediante una interacción con oxígeno molecular e iones ferrosos.

### 5.1.1 FARMACOLOGIA DE LA BLEOMICINA

#### i. Absorción, metabolismo y excreción.

La bleomicina se administra por vía parenteral (intravenosa, intraarterial, intramuscular o subcutánea) y no existen datos sobre su absorción oral.<sup>(10,12)</sup>

Se alcanzan altas concentraciones del fármaco en piel y pulmón (sitios de mayor toxicidad), no se une a las proteínas plasmáticas ni atraviesa la barrera hematoencefálica. La BLM tiene una vida media de tres horas, pero después de una infusión intravenosa constante la depuración de la BLM se prolonga con una vida media de hasta nueve horas.<sup>(12)</sup>

Generalmente, casi dos terceras partes de la dosis de BLM se excreta por la orina, probablemente por filtración glomerular. Pero, en pacientes con insuficiencia renal severa las concentraciones plasmáticas aumentan notablemente, por lo que las dosis deben ser re-

ducidas,(10)

ii. Indicaciones terapéuticas.

La bleomicina tiene efecto paliativo en el carcinoma de células escamosas en cabeza, cuello, mucosa oral, lengua, esófago, piel y tracto genitourinario. Ha mostrado ser efectiva en linfomas (enfermedad de Hodgkin y linfomas histiocítico y cítico) y carcinoma testicular.(3,10,12)

iii. Efectos secundarios.

A diferencia de otros agentes antineoplásicos, la bleomicina causa toxicidad mínima en la médula ósea. Los efectos adversos más comunes son reacciones mucocutáneas como estomatitis y alopecia, así como hiperpigmentación, hiperqueratosis, eritema puriginoso, ulceración y vesiculación de la piel (estos cambios pueden empezar por tumefacción de las manos o lesiones ulcerosas sobre las áreas de presión del cuerpo).(10)

La reacción adversa más seria de este fármaco es la toxicidad pulmonar que puede iniciarse con disminu

ción de la función pulmonar, estertores finos, tos difusa y llegar a una fibrosis pulmonar severa y en ocasiones mortal.<sup>(10)</sup>

### 5.1.2 ESTUDIOS REALIZADOS SOBRE LA INTERACCION DE IONES METALICOS CON BLEOMICINA

En cultivos celulares, la acción de la BLM consiste en provocar la ruptura de las cadenas del DNA. Un efecto similar se ha observado al incubar DNA aislado con BLM, pero existen evidencias de que la ruptura del DNA ocasionada por el fármaco es más eficiente en la presencia de agentes reductores, tales como 2-mercaptotanol, ascorbato y peróxido de hidrógeno. Los agentes reductores son dañinos para el DNA, pero la combinación de la BLM con un agente reductor logra mayor efecto sobre la degradación del DNA que si la BLM o el agente reductor se encontraran solos.<sup>(75-77)</sup>

Se ha establecido que el Fe(II) puede substituir a los agentes reductores antes mencionados, pero, en este caso también, la BLM y el Fe(II) juntos logran mayor -- eficacia sobre la degradación del DNA que cualquiera de ambas especies solas.<sup>(78-80)</sup> El Fe(II) no puede ser substituido por Fe(III); pero, en presencia de algun

agente reductor las dos especies iónicas, Fe(II) o Fe(III), estimulan la degradación del DNA causada por la BLM (Fig. 5.2) (79)

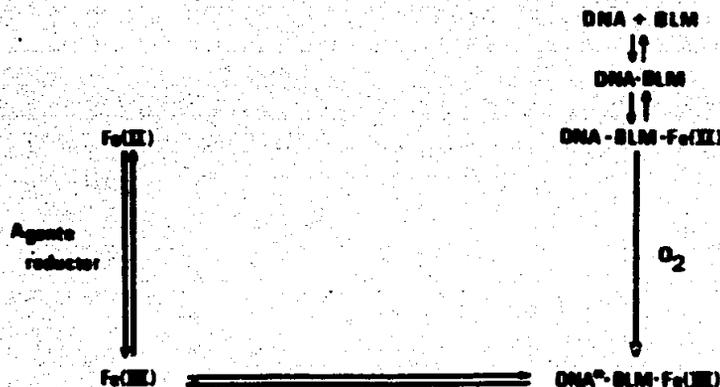


Fig. 5.2 Modelo propuesto de la degradación del DNA por la BLM. El antibiótico BLM enlaza al DNA. Fe(II) se combina con la BLM ya sea antes o después de que se enlace al DNA. La oxidación del compuesto DNA-BLM-Fe(II) finalmente resulta en DNA dañado (DNA\*). El Fe(III) puede ser reducido a Fe(II) en la presencia de agentes reductores y de esta manera tomar parte en varios eventos de ruptura del DNA. La reducción de Fe(III) presentada aquí no presupone un sitio específico de enlace del ion metálico durante su reducción a Fe(II).

Se han publicado diferentes estudios sobre el aspecto molecular del mecanismo de acción de la BLM. La actividad biológica de la BLM se cree se debe a su habilidad para intervenir en la ruptura oxidativa del DNA, en la presencia de sales de hierro y oxígeno - mediante la generación de un compuesto ternario activo (79-86)

Se han propuesto dos hipótesis sobre la naturaleza exacta de las especies activas que intervienen en el mecanismo de acción de la BLM durante la degradación del DNA:

1. Postula la generación de especies con radicales libres a partir de oxígeno ( $\cdot O_2^-$ ,  $\cdot OH$ ). Mediante estudios de absorción atómica (79-80) se propusieron las rutas A de la figura 5.3 y C o D de la figura 5.4; sin embargo, no hay evidencia de cual especie participa, lo único que está claro es que se requiere de oxígeno molecular para una alta eficiencia en la degradación del DNA por la BLM.

2. Propone la formación de un compuesto de hierro - con un alto estado de oxidación, como el compuesto  $BLM-Fe(V)=O$ . La ruta B de la figura 5.3 fue publicada en un estudio en el que se observaron espectros de RPE (82) similares de  $BLM-Fe(II)-O_2$  y de  $BLM-Fe(III)-H_2O_2$ .

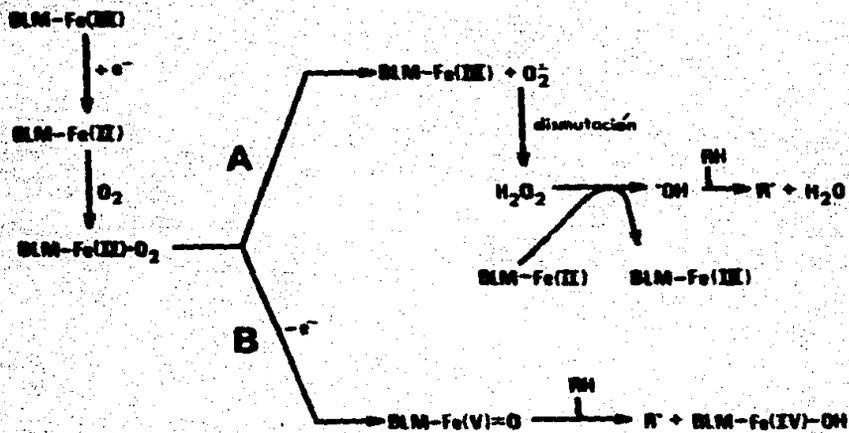


Fig. 5.3 Posibles rutas de la activación del compuesto Fe(II)-BLM.

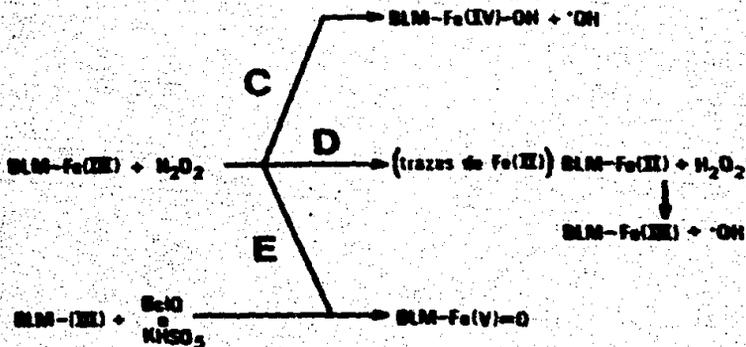


Fig. 5.4 Posibles rutas de la activación del compuesto Fe(III)-BLM.

En otros trabajos<sup>(85)</sup> se usa iodosobenceno (BcIO) con el compuesto BLM-Fe(III), sosteniendo que ocurre la formación del compuesto BLM-Fe(V)=O (ruta E, Fig. 5.4). Desafortunadamente se ha mostrado que el mecanismo de oxidación mediado por el compuesto BLM-Fe(V)=BcIO no necesariamente implica un intermediario Fe(V)=O. Otros investigadores trataron de probar otro donador de oxígeno el persulfato de hidrógeno y potasio (KHSO<sub>5</sub>)<sup>(86)</sup> proponiendo que también sigue la ruta E de la figura 5.4, en experimentos de ruptura del DNA.

No se ha logrado establecer cual hipótesis es la que corresponde a la realidad, y mucho menos la ruta de activación del compuesto de Fe-BLM, pero si esta bien fundamentado que para una eficiente degradación del DNA ocasionada por la BLM, se requiere de iones Fe(II) y oxígeno molecular.

La participación del hierro en la degradación del DNA por la BLM adquiere importancia porque este se encuentra presente en materiales biológicos, de este modo es altamente posible que participe en la degradación del DNA por la BLM aún en sistemas en los que no se ha adicionado.<sup>(79)</sup>

Mediante un estudio de absorción atómica<sup>(80)</sup> se ob

tuviron datos de que durante la degradación del DNA por el compuesto Fe(II)-BLM, las bases pirimidicas (C y T) son liberadas preferentemente sobre las bases puri cas (G y A); y no se producen fosfato inorgánico, mono nucleotidos o dinucleotidos. La BLM tiene sitios de in teracción con el DNA y con el ion metálico, bifunciona lidad a la que se atribuye su actividad. Estudios de fluorescencia<sup>(87-88)</sup> revelan que la posición bitiazol - se enlaza perfectamente a la base nitrogenada guanina en el DNA, y la carga positiva de la porción amina ter minal facilita el enlace de la BLM al ácido nucleico. Las secuencias primordialmente fragmentadas en el DNA - por el extremo 3', G-C y C-T, fueron verificadas -- por electroforesis.<sup>(89)</sup>

Titulaciones potenciométricas bajo condiciones - anaerobicas<sup>(80,90)</sup> indican que el compuesto formado en tre el Fe(II) y la BLM es un compuesto 1:1, donde la BLM se comporta como un ligante tetradentado que se co ordina con los grupos  $\alpha$ -amino, amina secundaria, pepti do desprotonado e imidazol de la histidina. Estudios polarográficos,<sup>(91)</sup> de absorción ultravioleta y visi- ble,<sup>(92)</sup> de RPE<sup>(92)</sup> y de RMN  $^{13}C$ <sup>(92-93)</sup> concuerdan con los sitios de coordinación amina y pirimidina, pero en la porción imidazol existen controversias, pues algunos

investigadores consideraban que el anillo imidazol no se encontraba involucrado.<sup>(93)</sup> Posteriormente sobre bases de evidencias espectroscópicas de RPE<sup>(94-96)</sup> se ha establecido que la BLM se coordina mediante cinco átomos de nitrógeno con el ion metálico (Fig. 5.5), sea éste Fe(II) o Fe(III) (dado que el compuesto colorido 1:1 de Fe(II)-BLM rosa palido-naranja muestra elevada tendencia a sufrir una oxidación por un intermediario oxigenado a el correspondiente compuesto de Fe(III) naranja-amarillo,<sup>(93)</sup> y a que ambos presentan espectros de absorción ultravioleta similares,<sup>(79)</sup> se supone que en los dos compuestos la BLM presenta los mismos sitios de coordinación). Los cinco átomos de nitrógeno involucrados en la coordinación son (Fig. 5.5):

- a) el nitrógeno de la amina secundaria,
- b) el nitrógeno heterocíclico de la pirimidina,
- c) el nitrógeno del anillo imidazol de la histidina,
- d) el nitrógeno desprotonado de la cadena peptídica,
- e) el nitrógeno  $\alpha$ -amino de la  $\beta$ -aminoalanina.

Bajo las mismas condiciones de espectroscopía de RPE,<sup>(94-97)</sup> mediante las que se establecieron los sitios de coordinación de la BLM, se ha propuesto para el compuesto Fe-BLM (Fe(II)-BLM o Fe(III)-BLM) la configuración de pirámide cuadrada (Fig. 5.6); donde los sitios

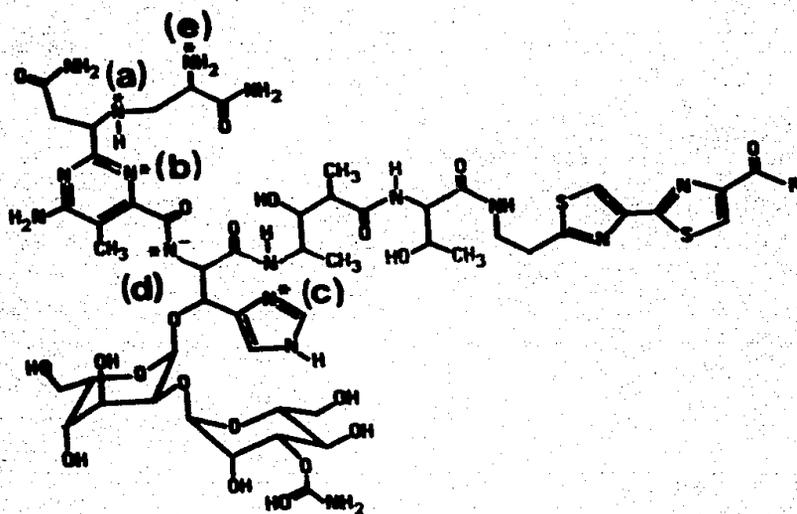


Fig. 5.5 Sitios de coordinación de la bleomicina.

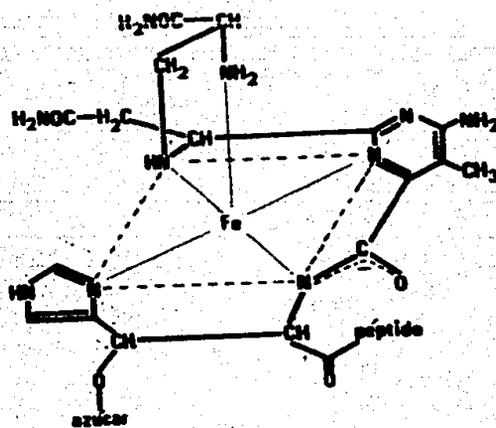


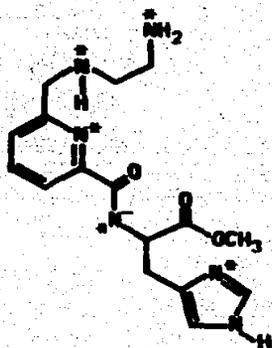
Fig. 5.6 Estructura propuesta para el compuesto de coordinación Fe-BLM.

a-d constituyen el plano cuadrado y el sitio e un quinto ligante axial.

Como es un hecho que la bleomicina, para una acción eficiente, requiere de iones Fe(II) y oxígeno molecular,<sup>(79-80)</sup> varios autores proponen la formación de un compuesto ternario de Fe(II)-BLM-O<sub>2</sub><sup>(79,82,94)</sup> y algunos han tratado de establecer la geometría y los sitios específicos de enlace para Fe(II) y oxígeno, pero los datos obtenidos por técnicas de RMN <sup>13</sup>C y RPE<sup>(94)</sup> no han sido lo suficientemente claros.

Tratando de establecer las características del compuesto de Fe-BLM-O<sub>2</sub> se utilizaron técnicas de RPE.<sup>(98)</sup> El estudio consistió en sintetizar una molécula modelo que simplificara la parte quelatante de la BLM e imitara perfectamente las propiedades de esta parte del antibiótico antitumoral natural. En la molécula sintética, designada como 2-(2-aminoetil)aminoetil-pirimidina-6-carboxil-histidinato de metilo (AMPHIS), el anillo de pirimidina fue reemplazado por un anillo de piridina y todas las cadenas laterales fueron omitidas (Fig. 5.7).

Los resultados de RPE permitieron establecer que ambos compuestos, tanto Fe(II)-AMPHIS-O<sub>2</sub> como Fe(II)-BLM-O<sub>2</sub>, presentan el mismo comportamiento. Sobre su



\* átomos de N análogos  
a los sitios de coordinación  
de la BLM.

Fig. 5.7 Estructura de la molécula modelo de la parte quelatante de la bleomicina, AMPHIS.

geometría se dice que el metal se enlaza al antibiótico y a la molécula modelo en la misma forma que se había propuesto para el compuesto Fe(III)-BLM, constituyendo el plano cuadrado los sitios a-d (Fig. 5.6) y el quinto ligante axial el sitio e (Fig. 5.6), y con el O<sub>2</sub> como un sexto ligando axial (Fig. 5.8). Confirmando una proposición anterior, sobre la forma del compuesto.<sup>(97)</sup>

Debido a que AMPHIS presenta la habilidad de producir radicales ·OH y ·O<sub>2</sub><sup>-</sup> en la presencia de Fe(II) y O<sub>2</sub>, se comprende la importancia de los átomos de nitrógeno involucrados en la coordinación del metal, y se supone también influyen sobre la actividad del oxígeno. Tam

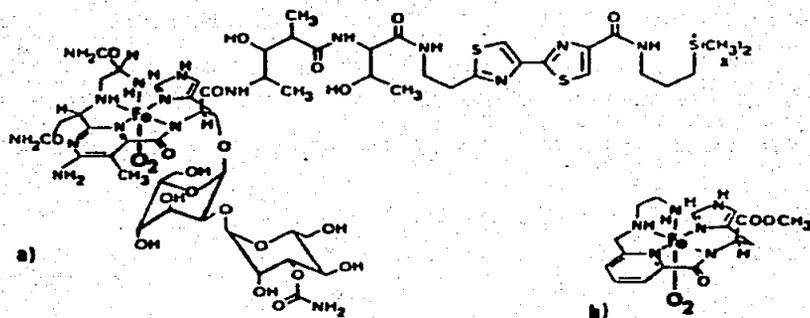


Fig. 5.8 Estructuras propuestas para los compuestos:  
 a) Fe(II)-BLM-O<sub>2</sub> y b) Fe(II)-AMPHIS-O<sub>2</sub>.

bién se demostró que los azúcares L-glucosa y 3-O-carbamoyl-D-manosa de la molécula de BLM, no parecen tener un papel importante en los dos fenómenos antes mencionados.

La molécula modelo AMPHIS puede ser un instrumento eficiente para el estudio de el enlace del metal a la BLM y de la activación de oxígeno por la misma BLM. - Puede ser también la base de la síntesis de una molécula más elaborada, incluyendo la parte bitiazol de la BLM, para poder establecer subsecuentemente el modo de enlace de la BLM a la molécula de DNA y la consecuente fragmentación.

En este mismo estudio que se sintetizó la molécula modelo AMPHIS,<sup>(98)</sup> también se analizaron los compuestos

de coordinación Cu(II)-AMPHIS y Cu(II)-BLM. Los resultados del método de RPE, que muestran espectros semejantes para ambos compuestos (Fig. 5.9), proporcionan parámetros que permiten establecer que los dos compuestos presentan igual comportamiento y la misma geometría de pirámide cuadrada (Fig. 5.10). La coordinación del antibiótico con el metal, involucra los mismos cinco átomos de nitrógeno ya mencionados anteriormente.

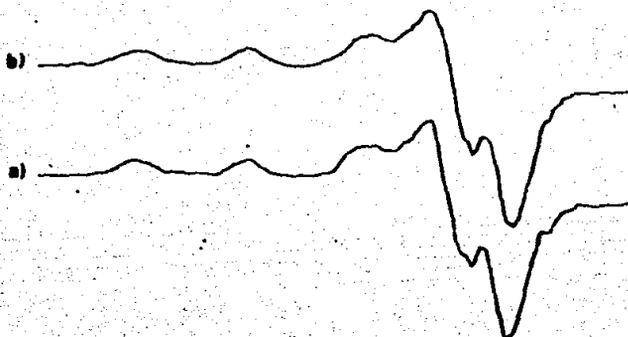


Fig. 5.9 Espectros de RPE de los compuestos:  
a) Cu(II)-BLM A<sub>2</sub> y b) Cu(II)-AMPHIS  
a pH 9.

Aun cuando los compuestos de Fe-BLM y Cu(II)-BLM presentan las mismas características estructurales, su comportamiento ante el DNA no es comparable,<sup>(99)</sup> pues en la presencia de un agente reductor el comportamiento -

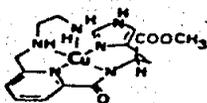


Fig. 5.10 Estructura propuesta para el compuesto de Cu(II)-AMPHIS.

del compuesto de Cu(II)-BLM mostró poca actividad en la degradación de DNA. La publicación que hace referencia a este hecho, comenta que es altamente improbable que el compuesto de Cu(II) actúe (eficazmente) sobre el DNA y, que en cambio el Fe es el metal realmente apropiado.

Se ha observado que iones metálicos divalentes, tales como Cu(II), Zn(II) y Co(II), inhiben la degradación de DNA por BLM y Fe(II) en la presencia de un agente reductor (2-mercaptoetanol).<sup>(79)</sup> Si en reacciones que contienen agentes reductores el Fe(II) es la especie que actúa directamente con la BLM para degradar DNA, entonces estos iones metálicos serían capaces de disminuir efectivamente la acción del Fe(II) con BLM, en la ausencia de dichos agentes reductores. Los resultados de un estudio de absorción atómica,<sup>(79)</sup> indican que Cu(II), Zn(II) y Co(II) presentes en una relación molar de 5:1 sobre el Fe(II), suprimen completamente la degradación del DNA.

El hecho de que Fe(II), Co(II), Cu(II) y Zn(II) producen perturbaciones similares en el espectro de absorción ultravioleta<sup>(79)</sup> de BLM hace evidente la proposición de que Co(II) y Zn(II) probablemente se enlazan a la BLM en el mismo sitio o en uno similar a Fe(II), Fe(III) y Cu(II).

Resultados obtenidos en trabajos potenciométricos y de RPE<sup>(90)</sup> indican que los compuestos de BLM con iones metálicos divalentes tienen sitios de coordinación similares; sin embargo, la estabilidad de los compuestos varía en el siguiente orden: Fe(II) < Co(II) < Ni(II) < Cu(II) > Zn(II). Investigaciones espectroscópicas y de cristalografía de rayos X sobre compuestos de coordinación de BLM con Cu(II), Co(II) y Ni(II) publican una configuración de pirámide cuadrada similar a la propuesta para el compuesto de Fe-BLM (Fig. 5.6), con los mismos sitios de coordinación para el plano basal y el ligante axial (Fig. 5.11)<sup>(94,100)</sup>

Por medio de técnicas de RPE,<sup>(101)</sup> se comprobó que el compuesto 1:1 de Co(II)-BLM tiene una configuración de pirámide cuadrada, con los mismos sitios de coordinación propuestos anteriormente (Figs. 5.5 y 5.6) (nitrógeno de la amina secundaria, nitrógeno de la pirimidina, nitrógeno del anillo imidazol y nitrógeno despro-

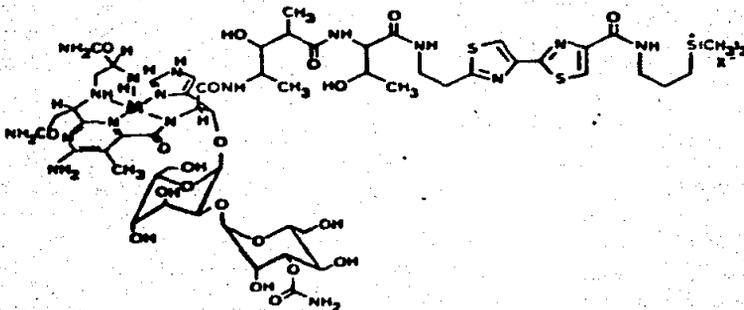


Fig. 5.11 Estructura propuesta para los compuestos Metal(II)-BLM A<sub>2</sub>.

tonado de la cadena peptídica para el plano basal y ni trógeno de la B-aminoalanina como ligante axial). Además refiere esta misma publicación, que el compuesto Co(II)-BLM forma un producto con oxígeno molecular con características estructurales similares a las del compuesto Fe(II)-BLM-O<sub>2</sub> (Fig. 5.8.a). Al igual que el com puesto de Fe(II), el oxígeno se coordina al metal en el sexto sitio axial libre (Fig. 5.12).

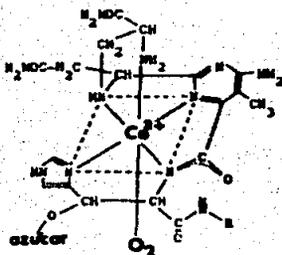


Fig. 5.12 Estructura propuesta para el compuesto Co(II)-BLM-O<sub>2</sub>.

Trabajos estrechamente relacionados<sup>(102-105)</sup> publican la existencia de compuestos de coordinación estables de BLM con Co(III), los cuales pueden activar la ruptura del DNA en presencia de radiación ultravioleta.

Los diferentes compuestos de Co(III)-BLM son separados de una misma mezcla de reacción acuosa (verde amarillenta) ajustada a un pH neutro,<sup>(102)</sup> y son:

- Un compuesto verde, en el que cinco ligantes son proporcionados por la BLM y un sexto ligante por hidropéroxido ( $\text{OOH}^-$ ).
- Un compuesto café, en el que el sexto ligante es una molécula de agua.
- Un compuesto naranja, en el que los seis ligantes están suministrados por la BLM.

Los experimentos caracterizan las particularidades de los compuestos Co(III)-BLM comparandolas con las del compuesto de Fe y BLM.

Los fragmentos de DNA producidos por la ruptura con compuestos Co(III)-BLM y radiación ultravioleta, muestran cierta preferencia por causar la ruptura de las cadenas de DNA en el extremo 3' de residuos de G particularmente si un residuo de T se encuentra a conti

nuación (secuencia G-T), lo cual fue también observado para el compuesto de Fe. Sin embargo, la forma naranja presenta mayor actividad que las otras. Lo que los autores proponen posiblemente se debe al sexto ligante - que en las formas verde y café es ajeno a la molécula de BLM.<sup>(104)</sup>

Una gran diferencia entre los compuestos de Co(III) y el de Fe, es que mientras el compuesto Fe(II)-BLM es dependiente de  $O_2$  los de Co(III) no requieren de la presencia de oxígeno para actuar con eficiencia.<sup>(104)</sup>

Se ha establecido que los compuestos de Co(III)-BLM no penetran eficientemente en células humanas normales pero se acumulan selectivamente en el núcleo de ciertos tipos de células cancerosas y se enlazan al DNA nuclear. En vista de lo observado, sería un logro que mediante modificaciones se pudieran usar compuestos de Co(III)-BLM selectivamente destruyendo tumores en presencia de tejido normal.<sup>(103)</sup>

Un compuesto de  $^{57}Co$ -BLM ha sido utilizado ampliamente como un radiofármaco para detectar cancer en pacientes humanos.<sup>(103)</sup>

La BLM también forma un compuesto de coordinación 1:1 con el ion vanadilo ( $VO^{2+}$ )<sup>(106)</sup> el cual fragmenta

efectivamente el DNA en presencia de  $H_2O_2$ . El compuesto de vanadilo fue caracterizado por técnicas de RPE, como un compuesto de geometría de piramide tetragonal de coordinación  $VO(N_5)$ . El modo de ruptura de la secuencia de bases inducida por el compuesto  $VO(II)$ -BLM - en presencia de  $H_2O_2$  es diferente al que présenta el compuesto de Fe-BLM, pues mientras que el compuesto de Fe rompe primordialmente la secuencia G-T ( $3' \rightarrow 5'$ ), el compuesto de  $VO(II)$  ataca la secuencia G-A ( $5' \rightarrow 3'$ ).

#### RESUMEN

La BLM, antibiótico glicopéptido antitumoral, causa la fragmentación del DNA. Para una degradación eficiente del DNA, la BLM requiere de la presencia de iones  $Fe(II)$  y de  $O_2$ .

El compuesto formado entre el  $Fe(II)$  y la BLM tiene una relación 1:1, y una geometría de piramide tetragonal. La BLM actúa como un ligante pentadentado cuyos sitios de coordinación son cinco átomos de nitrógeno (N de la amina secundaria, N del anillo imidazol, N desprotonado de la cadena peptídica, N de la pirimidina y N  $\alpha$ -amino de la  $\beta$ -aminoalanina), mismos que actúan al co-

ordinarse con cualquier otro ion metálico divalente: Zn(II), Cu(II), Ni(II) y Co(II). Debido a que la BLM requiere de oxígeno molecular para actuar eficientemente se ha propuesto la formación de un compuesto de Fe-BLM-O<sub>2</sub>, en el cual el metal y el antibiótico se unen en la misma forma que en el compuesto de Fe-BLM y el oxígeno ocupa el sexto ligando axial del Fe.

La presencia de iones metálicos divalentes como Cu(II), Zn(II), Ni(II) y Co(II) inhiben la acción de degradación del compuesto Fe-BLM; pues compiten con el Fe por los sitios de coordinación de la BLM, formando compuestos más estables que el Fe(II) pero que no actúan sobre el DNA.

La BLM forma compuestos de coordinación estables con Co(III), los cuales bajo la acción de radiación ultravioleta degradan al DNA. A diferencia de los compuestos de Fe, no requieren de oxígeno molecular para actuar con eficiencia. Estos compuestos poseen la propiedad de acumularse selectivamente en el núcleo de algunas células cancerosas y deficientemente en células sanas.

## 5.2 INTERACCION DE IONES METALICOS CON EL ACIDO NALIDIXICO Y SUS ANALOGOS

El ácido nalidíxico (Fig. 5.13.a) es un antibiótico sintetizado por primera vez en 1962, muy útil en el tratamiento de infecciones urinarias producidas por bacterias gramnegativas susceptibles. Posteriormente varios análogos han sido sintetizados y tenido éxito clínicamente, entre los que se encuentran: la cinoxacina (Fig. 5.13.b) y el ácido oxolínico (Fig. 5.13.c) (retirado del mercado, en México, desde 1984) (6,10,107)

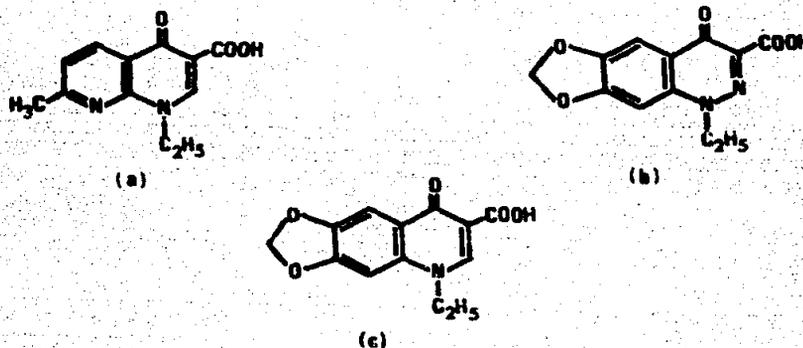


Fig. 5.13 a) Acido nalidíxico. b) Cinoxacina.  
c) Acido oxolínico.

Los miembros de la familia del ácido nalidíxico inhiben rápidamente la síntesis del DNA en las células

bacterianas sensibles, mientras que la síntesis de proteínas y de RNA continua sin modificaciones durante algún tiempo después de que la bacteria ha sido expuesta al fármaco. Estos antibióticos al parecer no afectan las células de los mamíferos. No está claro el mecanismo mediante el cual actúan el ácido nalidíxico y los demás miembros de su familia antibiótica, pero existe evidencia suficiente de que alteran la forma terciaria del DNA, actuando sobre la subunidad A de la enzima DNA-girasa (la DNA-girasa es una enzima, aislada por primera vez en 1976 de E. coli,<sup>(108)</sup> que modifica la estructura terciaria del DNA, al provocar un giro superhelicoidal dando lugar a un superenrollamiento negativo del DNA.- Esta formada por dos subunidades proteicas, la subunidad A con un peso molecular de 105 000 u.m.a. y la subunidad B con un peso molecular de 55 000 u.m.a.) ocasionando que el rompimiento y la restauración del DNA sean inhibidos, impidiendo así mismo la biosíntesis del DNA; motivo por el cual la célula bacteriana muere.<sup>(109-112)</sup>

Al parecer la quelatación de ciertos iones metálicos con los grupos carbonilo y carboxilo de la molécula de antibiótico y su enlace al DNA puede ser un prerequisite esencial para su actividad antibacterial.<sup>(113-114)</sup>

Se ha comprobado que el efecto ocasionado por el ácido nalidíxico y sus análogos es reversible; pues, cuando células expuestas al efecto del fármaco son colocadas en un medio carente de antibiótico, se reinicia el desarrollo.<sup>(115)</sup>

## 5.2.1 FARMACOLOGIA DEL ACIDO NALIDIXICO Y SUS ANALOGOS

### i. Absorción, metabolismo y excreción.

El ácido nalidíxico se absorbe casi por completo (96 %) por el tracto gastrointestinal.<sup>(6,10)</sup> Se metaboliza rápidamente en el hígado a una forma del compuesto biológicamente activa, el ácido hidroxinalidíxico, y en productos conjugados glucorónidos que son inactivos. Una tercera parte de la forma biológicamente activa presente en el plasma esta en forma de metabolito hidroxilado, ligado en un 63 % a las proteínas del plasma; y el resto es el compuesto original unido en un 93 %. Obteniéndose las más altas concentraciones en los tubulos renales, la vejiga y la uretra; ejerciendo una acción terapéutica al pH urinario normal ( $5 < \text{pH} < 6$ ). No se obtienen concentraciones antibacterianas efectivas en otras partes del organismo.<sup>(6,10,12)</sup>

La razón de que en ocasiones se presenta una respuesta pobre al tratamiento se debe, al menos en parte, a la poca distribución del fármaco en los tejidos. Aún cuando se ha probado la acción del ácido nalidíxico y sus análogos en el tratamiento de infecciones ajenas a la vía urinaria, no ha demostrado ser útil.

Más del 80 % del fármaco presente en la orina está en forma de conjugado glucorónido inactivo. De lo restante, la mayor parte está en forma del metabolito hidroxilado biologicamente activo (aproximadamente dieciséis veces más potente que el ácido nalidíxico). De esta manera, el efecto terapéutico de este medicamento se debe a la acción de la forma activa, el ácido hidroxinalidíxico. La concentración de la forma activa que se alcanza en la orina es varias veces mayor de la que se alcanza en el plasma.

La excreción se realiza casi completamente por la vía renal, más del 90 % en forma activa y una mínima parte (trazas) por vía fecal.

En general el comportamiento del ácido nalidíxico y el de sus análogos es muy similar, pero la principal diferencia está en su actividad, pues in vivo el ácido oxolínico es diez veces más potente que el ácido na-

lidíxico pero menor que la cinoxacina.<sup>(6,112)</sup> También - poseen tiempos de vida media biológica distintos, el del ácido nalidíxico es de 1 a 2 horas pero puede aumentar hasta cerca de tres veces en pacientes con insuficiencia renal y se sabe que el del ácido oxolínico es más largo pero no se publica el dato exacto,<sup>(6,10)</sup> la cinoxacina tiene un tiempo de vida media de una a una hora y media después de una dosis oral de 500 mg.<sup>(116)</sup> La cinoxacina se excreta al igual que el ácido nalidíxico por vía renal; pero, aproximadamente el 60 % de la dosis se libera como cinoxacina sin alteración, y el remanente en forma de varios metabolitos inactivos.

## ii. Indicaciones terapéuticas.

Los antibióticos de la familia del ácido nalidíxico están indicados en el tratamiento de infecciones urinarias producidas por bacterias gramnegativas sensibles, casi el 100 % de las cepas de Escherichia coli y de Proteus mirabilis, del 75 al 90 % de otras especies de Proteus, más del 90 % de las especies de Klebsiella y Enterobacter, resultando también susceptibles más del 80 % de otras bacterias coliformes. Pero, por el contrario otros bacilos gramnegativos como las Pseudomonas

son resistentes.<sup>(10,12)</sup>

### iii. Efectos secundarios.

Los efectos colaterales al uso del ácido nalidíxico y sus análogos,<sup>(10,12)</sup> son náusea, vómito y urticaria. Ocasionalmente se produce diarrea, fiebre, fotosensibilidad y trastornos neurológicos incluyendo cefalea, somnolencia, vértigo, parestesias, debilidad muscular, mialgias, etcétera. Más raramente producen leucopenia, trombocitopenia, anemia hemolítica, convulsiones y reacción anafiláctica.

En algunas ocasiones se han presentado trastornos visuales, como enturbiamiento de la visión, dificultad en la acomodación, fotofobia y alteraciones de la percepción del color.

Cuando se han utilizado en niños pequeños o en recién nacidos, han producido ocasionalmente hipertensión intracraneal con papiledema y protuberancia de las fontanelas.

También se ha informado que el ácido nalidíxico puede dar lugar a pruebas falsas positivas de glucosa en la orina.<sup>(10)</sup>

El ácido oxolínico es el que ha presentado mayor toxicidad en el sistema nervioso central. Los efectos secundarios son más frecuentes en los pacientes ancianos e incluyen inquietud, insomnio, mareo, cefalea y náuseas. Debido a la creciente incidencia de toxicidad del sistema nervioso central en comparación con lo registrado para el ácido nalidíxico, este último es generalmente el fármaco de elección.<sup>(12)</sup>

#### 5.2.2 ESTUDIOS REALIZADOS SOBRE LA INTERACCION DE IONES METALICOS CON EL ACIDO NALIDIXICO Y SUS ANALOGOS

Al igual que cualquier fármaco los miembros de esta familia de antibióticos sintéticos al ser administrados a un paciente llegan a un medio biológico en el que además de otros tantos constituyentes existen iones metálicos, que interactúan con el antibiótico influyendo en su comportamiento, por este motivo algunos investigadores se han interesado en el estudio de la interacción entre ambas especies.

Diversos estudios en solución publican los valores de las constantes de estabilidad de los compuestos formados entre el ácido nalidíxico y diferentes iones metálicos ( $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Ba^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,

$Fe^{2+}$  y  $Fe^{3+}$ ) pero desafortunadamente en ninguno de los trabajos se aislaron o caracterizaron los compuestos formados.<sup>(110,117)</sup> En los estudios realizados entre el ácido nalidíxico (HNAL) y el  $Fe(III)$  se propone que en solución existen tres especies de compuestos entre el ion nalidixato ( $NAL^-$ ) y el ion metálico:  $Fe(NAL)^{2+}$ ,  $-Fe(NAL)_2^+$  y  $Fe(NAL)_3$ .<sup>(117)</sup>

Posteriormente mediante técnicas de espectroscopía infrarroja, electrónica, RPE, espectrofotometría de - Mossbauer y la determinación de momentos magnéticos,<sup>(110)</sup> se sugiere que en la interacción del fármaco con algún ion metálico es el ion nalidixato el que se coordina al metal mediante los grupos 3-carboxilato y 4-ceto como sitios activos (Fig. 5.14).

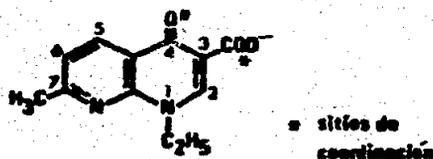


Fig. 5.14 Sitios de coordinación propuestos para el ion nalidixato.

Los compuestos de coordinación formados con el ion nalidixato y elementos de la primera serie de transi

ción (Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu y Zn) presentaron dos diferentes tipos de estructuras, dependiendo del estado de oxidación del ion metálico. Para un estado de oxidación III se observa una estructura de tipo quelato, y para un estado de oxidación II se observa una estructura polimérica con puentes nalidixato, con excepción del compuesto de Cu(II) que forma un compuesto de estructura quelato.

En este mismo trabajo se establece que el ion nalidixato, dentro de la serie espectroquímica, se comporta como un ligante de campo débil similar al agua y al oxalato.

Tratando de establecer el comportamiento in vivo del ácido nalidixico frente a la interacción de los iones metálicos presentes naturalmente en los sistemas biológicos, se han realizado estudios de simulación por computadora del plasma sanguíneo.<sup>(114)</sup> Las simulaciones están basadas en las constantes de formación de los compuestos formados entre el ácido nalidixico y los iones Ca(II), Mg(II), Cu(II), Fe(II), Mn(II) y Zn(II) determinadas mediante titulaciones potenciométricas bajo condiciones fisiológicas (a 37 C en medio acuoso de NaCl 0.15 mol/dm<sup>3</sup>). Los resultados obtenidos en base a la simulación del plasma sanguíneo, sugieren que el ácido

nalidixico principalmente no es coordinado en plasma y de esta manera actúa intracelularmente. (El mismo estudio fue realizado para el ácido oxolínico, aportando el mismo resultado).

En el mismo trabajo se hace la observación de que el ion  $Fe(II)$  es oxidado en la presencia de ácido nalidixico, estableciendo que el ácido nalidixico acelera la velocidad de transferencia de electrones para el  $Fe(II)$  al citocromo c y se sugiere que esto ocurre vía un compuesto formado entre el fármaco, el metal y la enzima.

Se sugiere que la quelatación de  $Cu(II)$  y posiblemente de  $Fe(II)$  por el ácido nalidixico puede eliminar la repulsión electrostática entre el DNA celular cargado negativamente y el anion nalidixato. La extrapolación de los resultados de las simulaciones tienden a indicar que tales interacciones pueden envolver al  $Fe(II)$  más que al  $Cu(II)$ . Como se sabe que las bases del DNA de cadena simple forman compuestos de coordinación con el  $Fe(II)$  y el  $Cu(II)$  (los residuos de G constituyen los sitios de enlace preferidos) y es evidente la formación de compuestos ternarios entre el ácido nalidixico, el  $Cu(II)$  y el nucleosido de guanosina-5'-monofosfato; los autores apoyan la sugerencia de que el ion metálico

participa en el enlace del ácido nalidíxico al DNA.

La interacción de iones metálicos con la cinoxacina (HCNX), ha sido estudiada mediante técnicas cuantitativas de fluorescencia<sup>(118)</sup> usando plomo y talio, logrando detectar cantidades tan pequeñas como 50 pg.

Mediante técnicas de espectroscopía infrarroja, espectroscopía electrónica, microanálisis de C, H y N, RPE, RMN y termogravimetría se estudió la formación de compuestos de coordinación de la cinoxacina (Fig. 5.15) con iones metálicos, tales como Cu(II), Ni(II), Co(II) y Fe(III)<sup>(111)</sup>

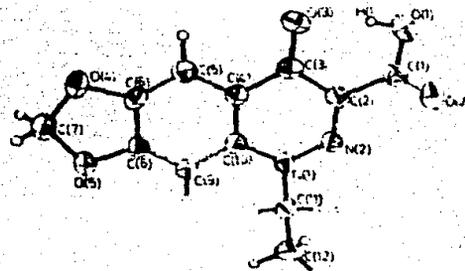


Fig. 5.15 Estructura cristalina de la cinoxacina.

La mayoría de los compuestos formados presentan una relación estequiométrica (metal-ligante) de 1:2 y una minoría de cuatro compuestos tiene la relación 1:1.

Así mismo predomina la formación de compuestos con una geometría octaédrica; sin embargo, los compuestos del tipo  $[M(CNX)_2H_2O]$  para el Co(II) y  $[M(CNX)(HCNX)xH_2O]$  para el Cu(II) presentan una geometría de bipirámide trigonal, y una geometría tetraédrica los compuestos de Zn(II).

El ligante presenta dos tipos de comportamiento frente a la interacción de los iones metálicos:

- Comportamiento tipo quelato. En donde el oxígeno del grupo carboxilo se desprotona, y la coordinación al metal ocurre mediante la participación del N(2) para formar el quelato.
- Comportamiento mixto. (En los compuestos del tipo 1:2) uno de los ligantes se comporta como quelato y el otro se coordina únicamente mediante el N(2) pero permaneciendo el grupo carboxilo protonado; con la característica de que el compuesto conserva el contraion ( $Cl^-$ ,  $Br^-$ ,  $NO_3^-$ ,  $ClO_4^-$  y  $BF_4^-$ ) de la sal empleada.

En todos los compuestos el sitio de coordinación es el N(2), y se propone que se favorece la formación de quelatos por los sitios de coordinación N(2)-O(2) dando lugar a un anillo de cinco miembros (muy estable).

La interacción de iones metálicos con el ácido oxolínico, ha sido estudiada mediante espectrofotometría utilizando cloruro ferrico puro, porque forma un compuesto de coordinación colorido con el Fe(III).<sup>(119)</sup> También se publica la formación de compuestos de coordinación con Cu(II) y Mg(II), la cual no afecta el mecanismo de acción del ácido oxolínico pero si lo vuelve más liposoluble y aumenta su actividad biológica.<sup>(120)</sup>

En el mismo estudio de simulación por computadora que se mencionó con anterioridad, para el ácido nalidíxico, también se simuló el comportamiento del ácido oxolínico en el plasma sanguíneo; obteniéndose el mismo resultado que para el ácido nalidíxico.<sup>(114)</sup>

Mediante técnicas de análisis y espectroscopia infrarroja, espectroscopia electrónica, RMN y determinación de los momentos magnéticos se estudiaron la geometría y las características de los compuestos formados entre el ácido oxolínico y los iones Fe(III), Co(II), Ni(II), Cu(II) y Zn(II).<sup>(112)</sup>

En general los compuestos formados presentan una geometría octaédrica, exceptuando los compuestos formados con el ion Zn(II) que presentan una geometría tetraédrica.

El ácido oxolínico se considera un ligante de fuerza débil, y presenta tres tipos de comportamiento:

- El grupo carboxilo se desprotona para coordinarse a iones metálicos, provenientes de acetatos, en medio acuoso.
- Comportamiento mixto. (En los compuestos con la relación metal-ligante 1:2) una molécula de ligante permanece protonada manteniendo una interacción con el ion metálico central y no un enlace de coordinación, y la otra se desprotona como en el caso primero.
- Se forma un compuesto donde se encuentran enlazados los dos contraiones y participa únicamente una molécula de ácido oxolínico protonada. Los compuestos que presentan este comportamiento son los de Ni(II) con los halógenos cloro y bromo coordinados.

## RESUMEN

El ácido nalidíxico y sus análogos, el ácido oxolínico y la cinoxacina, son antibióticos sintéticos estructuralmente similares utilizados en infecciones del tracto urinario; cuyo mecanismo de acción consiste en inhibir la biosíntesis del DNA en células bacterianas.

Se piensa que el antibiótico requiere de la quelatación de ciertos iones metálicos para su enlace al DNA. Por este motivo y por el hecho de que en los sistemas biológicos, como en el hombre, se encuentran presentes iones metálicos que pueden interactuar con el fármaco se han realizado estudios a este respecto.

En general se puede decir que el comportamiento -- frente a los iones metálicos, es muy similar para el ácido oxolínico y la cinoxacina pero diferente para el ácido nalidíxico. La principal diferencia consiste en que el ácido nalidíxico no forma compuestos mixtos y la cinoxacina y el ácido oxolínico sí, aunque de naturaleza distinta. Los compuestos mixtos formados por la cinoxacina, se propone, coordinan con la participación de el N(2) y el O(2), mientras que en el ácido oxolínico este nitrógeno no existe y solo participa el O(2). En el ácido nalidíxico los sitios de coordinación, se considera, son los grupos 3-carboxilato y 4-ceto.

## COMENTARIOS

El interés que a través de los años ha despertado la relación existente entre los fármacos (específicamente los antibióticos) y los iones metálicos presentes naturalmente en el organismo humano, ha dado lugar a numerosos estudios sobre dicha interrelación. Tales estudios fueron el objetivo de este trabajo, por medio de los cuales se puede observar que de una u otra manera los iones metálicos influyen sobre el comportamiento de algunos antibióticos.

La actividad de los antibióticos se ve afectada ya sea positiva o negativamente por la presencia de iones metálicos, resultando así en algunos casos benéficos y en otros no; aún cuando el mecanismo en el cual se ven involucrados el antibiótico y el ion metálico, es muy particular para cada uno de los antibióticos mencionados en este trabajo. Así por ejemplo antibióticos tales como la bacitracina, la bleomicina, y el ácido nalidíxico y sus análogos se ven beneficiados por la presencia de iones metálicos o hasta requieren de ellos para que su actividad sea más eficiente; mientras que las tetraciclinas y las polimixinas por el contrario ven dis-

minuido su efecto antibacterial con la presencia de dichos iones. La gramicidina A tiene una función estrechamente relacionada con la presencia de los iones metálicos; pues actúa como un ionóforo, propiedad que interviene directamente en su mecanismo de acción.

La interrelación existente entre los antibióticos y los iones metálicos, presenta diferentes características que pueden dividirse en distintos comportamientos:

1. Cuando los iones metálicos influyen positivamente sobre la actividad antibacteriana.

- a. De tipo estructural.

En este caso se encuentran algunos polipéptidos - como la bacitracina A y la gramicidina A, los que presentan distintos comportamientos.

Con la bacitracina A el ion metálico se coordina al antibiótico provocando un cambio conformacional del péptido, el cual practicamente se envuelve alrededor de el ion metálico facilitando su transporte a través de la membrana celular y facilitando su acción de inhibición sobre la biosíntesis de la pared celular.

La gramicidina A en cambio adopta una conformación

de doble hélice formando canales en la membrana celular, permitiendo así el paso de cationes monovalente al interior del microorganismo, lo que provoca un desequilibrio en el contenido celular de estos iones, causandole la muerte.

b. De enlace.

Los iones metálicos están estrechamente involucrados en el mecanismo de acción del antibiótico. Como en los casos de la bleomicina y la familia del ácido nalidíxico.

La bleomicina requiere de iones metálicos ( $Fe^{2+}$ ) - para llevar a cabo su actividad, pues forman un compuesto de coordinación activo, donde el ion metálico genera reacciones de oxido-reducción durante las que se forman radicales libres fundamentales para su actividad. De esta manera el antibiótico puede actuar sobre el DNA, - provocando la muerte de células cancerígenas principalmente.

Para el ácido nalidíxico y sus análogos se ha propuesto que es necesario formen un compuesto con iones metálicos, en donde el metal participa directamente en el enlace del antibiótico al DNA de la célula sensible.

2. Cuando los iones metálicos interfieren con la acti  
vidad antibacteriana.

a. Formando compuestos con el antibiótico.

Se sabe que las tetraciclinas requieren de iones -  
Mg(II) en muy pequeñas cantidades para actuar, pero en  
concentraciones elevadas se interfiere con su actividad,  
el ion metálico se coordina con el antibiótico formando  
un compuesto estable, el que impide que el antibiótico  
sea biodisponible.

b. Competiendo con el antibiótico.

El ion metálico compete por el mismo sitio sobre -  
el que actúa el antibiótico, como sucede con las poli-  
mixinas, las que alteran la permeabilidad de la membra  
na celular.

Es importante hacer notar que el uso indiscrimina-  
do e irracional que se ha hecho de los antibióticos, ha  
dado como resultado el que cada vez sea más difícil com-  
batir cepas resistentes de microorganismos infectantes,  
por tal motivo se debe conducir con cautela la aplica-  
ción de estos. Debe tomarse en cuenta que desde la apa-  
rición de los antibióticos la práctica médica se modifi-  
có en muchos aspectos ya que mediante su uso se redujo

el índice de mortalidad por enfermedades infecciosas, y de alguna manera se contribuyó al aumento de la longevidad en las personas, y a una mejor calidad de vida.

Actualmente se dispone de una gran variedad de antibióticos, que permiten tratar casi todas las enfermedades infecciosas y algunos tipos de cáncer, con deficientes o buenos resultados. Por tales motivos, estamos comprometidos a estudiarlos y a utilizarlos correctamente.

## BIBLIOGRAFIA

1. MD en español, 5 [4] 115-20 (1967).
2. Tyler, J.E., Brady, L.R. and Robbers, J.E.  
Pharmacognosy  
8th. Ed.  
Lea & Febiger  
Philadelphia (1981)
3. Remington's Pharmaceutical Sciences  
17th Ed.  
Mack Publishing Company  
EUA (1985).
4. Morre, J.A., et al.  
Biological Science an Inquiry into Life  
2nd. Ed.  
Harcourt Brace and World, Inc.  
EUA (1968).
5. Brock, T.D.  
Biología de los Microorganismos  
2da. Edic.  
Ediciones Omega, S.A.  
Barcelona (1978).

6. Pratt, W.B.  
Quimioterapia de la infección  
Fondo Educativo Interamericano, S.A.  
(1981)
7. Schlegel, H.G.  
Microbiología general  
2da. Edic.  
Ediciones Omega, S.A.  
Barcelona (1979)
8. Lehninger, A.L.  
Bioquímica  
8va. Edic.  
Ediciones Omega, S.A.  
Barcelona (1984)
9. Hughes, M.N.  
The inorganic chemistry of biological processes  
2nd. Ed.  
John Wiley & Sons.  
New York (1981)
10. Rodríguez, R.C.  
Vademécum académico de medicamentos  
1a. Edic.  
Universidad Nacional Autónoma de México  
México (1984)

11. Rosenstein, E.  
Diccionario de especialidades farmaceuticas  
32a. Edic.  
Ediciones P.L.M., S.A.  
México, D.F. (1986)
12. Goodman, A.G., Goodman, L.B., Roll, T.W. y Murad, F.  
Las bases farmacológicas de la terapéutica  
7a. Edic.  
Editorial Médica Panamericana  
México (1986)
13. Konigsber, W. and Craig, L.C. J. Am. Chem. Soc., -  
81 [13] 3452-8 (1959).
14. Ressler, C. and Kashelkar, D.V. J. Am. Chem. Soc.,  
88 [9] 2025-35 (1966).
15. Galardy, R.E., Printz, M.P. and Craig, L.C. Biochem  
istry, 10 [13] 2429-36 (1971).
16. Adler, R.H. and Snoke, J.E. J. Bacteriol., 83 1315-  
17 (1962).
17. Storm, D.R. and Strominger, J.L. J. Biol. Chem., 249  
[6] 1823-27 (1974).
18. Mac Donald, R.I., Mac Donald, R.C. and Cornell, N.W.  
Biochemistry, 13 [19] 4018-24 (1974).

19. Garbutt, J.T., Morehouse, A.L. and Hanson, A.M. J. Agr. Food Chem., 9 285-9 (1961).
20. Craig, L.C., Phillips, W.F. and Burachik, M. Biochemistry, 8 [6] 2348-56 (1969).
21. Wasylshen, R.E. and Graham, M.R. Can. J. Biochem., 53 [12] 1250-4 (1975).
22. Scogin, D.A., Mosberg, H.I., Storm, D.R. and Gennis, R.B. Biochemistry, 19 [14] 3348-52 (1980).
23. Charnok, F.W. U.S. Patent. No. 2 809 892, (1958). Chem. Abstr. 52 1508i (1957).
24. Mosberg, H.I., Scogin, D.A., Storm, D.R. and Gennis, R.B. Biochemistry, 19 [14] 3353-7 (1980).
25. Seebauer, E.G., Duliba, E.P., Scogin, D.A., Gennis, R.B. and Belford, R.L. J. Am. Chem. Soc., 105 [15] -- 4926-9 (1983).
26. Scogin, D.A., Baldwin, T. and Gennis, R.B. Biochim. Biophys. Acta, 742 [1] 184-B (1983).
27. Hladky, S.B. and Haydon, D.A. Biochim. Biophys. Acta, 274 [2] 294-312 (1972).
28. Veatch, W.R., Fossel, E.T. and Blout, E.R. Biochemistry, 13 [26] 5249-56 (1974).

29. Veatch, W.R. and Blout, E.R. *Biochemistry*, 13 [26] 5257-64 (1974).
30. Fossel, E.T., Veatch, W.R., Ovchinnikov, Y.A. and Blout, E.R. *Biochemistry*, 13 [26] 5264-75 (1974).
31. Koeppe II, R.E., Hodgson, K.D. and Stryer, L. *J. Mol. Bio.*, 121 41-54 (1978).
32. Koeppe II, R.E., Berg, J.M., Hodgson, K.D. and -- Stryer, L. *Nature (London)*, 279 723-5 (1979).
33. Wallace, B.A. *Biopolymers*, 22 397-402 (1983).
34. Wallace, B.A. *Biophys. J.*, 45 [1] 1114-16 (1984).
35. Naik, V.M. and Krimm, S. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 125 [3] 919-25 (1984).
36. Heitz, F. and Gavach, C. *Biophys. Chem.*, 18 [2] 153-63 (1983).
37. Naik, V.M. and Krimm, S. *Biophys. J.*, 45 [1] 109-12 (1984).
38. Kimbal, M.R. and Wallace, B.A. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 435 551-4 (1984).
39. Arseniev, A.S., Barsukov, I.L. and Bystrov, V.F. *FEBS Lett*, 180 [1] 33-9 (1985).

40. Caffier, G. und Shvinka, N.C. Acta Biol. Ger., 41  
[1]1087-90 (1982).
41. Franklin, T.J. and Higginson, B. Biochem. J., 116  
[2]287-97 (1970).
42. Colaizzi, J. and Klink, P.R. J. Pharm. Sci., 58 [10]  
1184-9 (1969).
43. Brion, M., Berthon, G. and Fourtillan, J.B. Inorg.  
Chim. Acta, 55 [2]47-56 (1981).
44. Neuvonen, P.J., Gothoni, G., Hackman, R. and Björks  
ten, K. Brit. Med. J., 4[5734]532-4 (1970).
45. Ishiboshi, M., Nakamura, K., Motoya, T., Wakamatsu,  
H., Shinkawa, T. and Matsumoto, Y. Igaku no Ayumi,  
112 [12] 756-6 (1980).
46. Berthon, G., Brion, M. and Lambs, L. J. Inorg. Bio  
chem., 19 [1] 1-18 (1983).
47. Berthon, G., Brion, M. et Lambs, L. J. Chim. Phys.,  
Phys. Chim. Biol., 79 [9] 677-86 (1982).
48. Meshkov, A.N., Slugina, M.D. and Makarevish, V.G.  
Antibiotiki, 18 [6] 493-6 (1973).
49. Penttila, O., Hurme, H. and Neuvonen, P.J. Eur. J.  
Clin. Pharmacol., 9 [2-3] 131-4 (1975).

50. Parker Anthony, C.  
Anatomía y Fisiología  
7ma. Edic.  
Nueva Editorial Interamericana, S.A. de C.V.  
México (1970)
51. Button, C. and Mulder, M.S.G. Am. J. Vet. Res., 45  
[8]1658-9 (1984).
52. Heramo, T. and Yagishita, K. Nihou Daiga Ku No-Yui  
gakubu Gakujotsu Kenkyu Hokoku, [39]1-6 (1982).
53. Kohn, K.W. Nature, 191 1156-8 (1961).
54. Sompolinsky, D. and Samra, Z. J. Bacteriol., 110 [2]  
468-76 (1972).
55. Gimble, J.M., Gustin, M., Goodman, D.B.P. and Rasmus  
sen, H. Biochim. Biophys. Acta, 685 [3]253-9 (1982).
56. White, J.R. and Pearce, F.L. Biochemistry, 21 [24]  
6309-12 (1982).
57. Alykova, T.V., Cherkesov, A.I. and Alykov, N. Fiz.-  
Khim. Metody Anal. Kontr. Proizvod., Mater. Kouf. -  
Rab. Vuzov., 38 68-9 (1972).
58. Cherkesov, A.I. and Alykova, T.V. Zh. Anal. Khim.,  
28 [2]337-9 (1973).

59. Kordnja, D. und Gertner, A. Acta Pharm. Jugosl., 25 [2] 111-5 (1975).
60. Riaz, M. y Pilpl, N. J. Pharm. Pharmacol., 3b [3] 153-6 (1984).
61. Janik, B. und Holiat, D. Acta Pol. Pharm., 29 [2] 169-74 (1972).
62. Hassan, S.S.M., Amer, M.M and Ahmed, S.A. Mikrochim. Acta, 3 [3-4] 165-76 (1984).
63. Katakwar, T.K. and Kacchawaha, M.S. Hind. Antibiot. Bull., 26 [1-2] 9-13 (1984).
64. Sachan, N.P. and Gupta, C.M. Talanta, 27 [5] 457-9 (1980).
65. Mitscher, L.A., Bonacci, A.C., Slater, B.J., Hacker, A.K. and Sokoloski, T.D. Antimicrob. Ag. Chemother., 111-5 (1969).
66. Magnam, J., Barthes, D. et Giraud, J.J. Ann. Pharmaceutiques Françaises, 42 [2] 155-9 (1984).
67. Shaw, J. and Everett, W.Jr. J. Inorg. Biochem., 17 305-11 (1982).
68. Jogun, K.H. and Stezowski, J.J. J. Am. Chem. Soc., 98 [19] 6018-26 (1976).

69. Lambs, L., Brion, M. and Berthon, G. Agents and Actions, 14 [5-6] 743-50 (1984).
70. Lambs, L., Brion, M. and Berthon, G. Inorg. Chim. Acta, 106 [3] 151-8 (1985).
71. Brion, M., Lambs, L. and Berthon, G. Inorg. Chim. Acta, 123 [2] 61-9 (1986).
72. Umezawa, H., Maeda, K., Tackeucki, T. and Okami, Y. J. Antibiot., 19A 200-9 (1966).
73. Umezawa, H., Suhara, Y., Tackita, T. and Maeda, K. J. Antibiot., 19A 210-5 (1966).
74. Suzuki, H., Nagai, K., Tanaka, N. and Umezawa, H. J. Antibiot., 21 [6] 379-86 (1968).
75. Suzuki, H., Nagai, K., Tanaka, N. and Umezawa, H. J. Antibiot., 22 446-8 (1969).
76. Nagai, K., Suzuki, H., Tanaka, N. and Umezawa, H. J. Antibiot., 22 [11] 569-73 (1969).
77. Nagai, K., Suzuki, H., Tanaka, N. and Umezawa, H. J. Antibiot., 22 [12] 624-8 (1969).
78. Sausville, E. A., Peisach, J. and Horwitz, S. B. Biochem. Biophys. Res. Commun., 73 814-22 (1976).

79. Sausville, E.A., Peisach, J. and Horwitz, S.B. --  
Biochemistry, 17 [14] 2740-6 (1978).
80. Sausville, E.A., Stein, R.W., Peisach, J. and Hor-  
witz, S.B. Biochemistry, 17 [14] 2746-54 (1978).
81. Sugiura, Y. and Kikuchi, T. J. antibiot., 31 [12]  
1310-12 (1978).
82. Burger, R.M., Peisach, J. and Horwitz, S.B. J. -  
Biol. Chem., 256 [22] 11636-44 (1981).
83. Murugesan, N., Ehrenfeld, G.M. and Hecht, S.M. --  
J. Biol. Chem., 257 [15] 8600-3 (1982).
84. Murugesan, N. and Hecht, S.M. J. Am. Chem. Soc.,  
107 [2] 493-500 (1985).
85. Moriarty, R.M., Penmasta, R. and Prakash, I. Tetra  
hedron Lett., 26 [39] 4699-702 (1985).
86. Pratviel, G., Bernadou, J. and Meunier, R. Biochem.  
Biophys. Res. Commun., 136 [3] 1013-20 (1986).
87. Chien, M., Grollman, A.P. and Horwitz, S.B. Bio--  
chemistry, 16 [16] 3641-6 (1977).
88. Kasai, H., Naganawa, H., Takita, T. and Umezawa, H.  
J. Antibiot., 31 [12] 1316-20 (1978).

89. Suzuki, T., Kuwahara, J., Goto, M. and Sugiura, Y. Biochim. Biophys. Acta, 824[4]330-5 (1985).
90. Sugiura, Y., Ishizu, K. and Miyoshi, K. J. Antibiot., 32[5]453-61 (1979).
91. Dabrowiak, J.C. and Santillo, F.S. J. Electrochem. Soc., 126[12] 2091-5 (1979).
92. Dabrowiak, J.C., Greenaway, F.T., Santillo, F.S. - and Crooke, S.T. Biochem. Biophys. Res. Commun., 91[3] 721-9 (1979).
93. Gupta, R.K., Ferretti, J.A. and Caspary, W.J. -- Biochem. Biophys. Res. Commun., 89[2]534-41 (1979).
94. Sugiura, Y. J. Am. Chem. Soc., 102[16] 5208-15 (1980).
95. Oppenheimer, N.J., Rodriguez, L.D. and Hecht, S.M. Biochemistry, 19[17] 4096-103 (1980).
96. Albertini, J.P. and Garnier-Suillerot, A. Biochemistry, 23[1]47-53 (1984).
97. Otsuka, M., Yoshida, M., Kobayashi, S. and Ohno, M. J. Am. Chem. Soc., 103[23]6986-8 (1981).
98. Hénichart, J.P., Bernier, J.L., Houssin, R., Lohez, M., Kenani, A. and Catteau, J.P. Biochem. Biophys. Res. Commun., 126[3]1036-41 (1985).

99. Suzuki, T., Kuwahara, J. and Sugiura, Y. Biochemistry, 24 [18] 4719-21 (1985).
100. Burger, R.M., Adler, A.D., Horwitz, S.B., Mims, W.B. and Peisach, J. Biochemistry, 20 [6] 1701-4 (1981).
101. Sugiura, Y. J. Am. Chem. Soc., 102 [16] 5216-21 (1980).
102. Dabrowiak, J.C. and Tsukayama, M. J. Am. Chem. Soc. 103 [25] 7543-50 (1981).
103. Chang, C.H. and Meares, C.F. Biochemistry, 21 [25] 6332-4 (1982).
104. Chang, C.H. and Meares, C.F. Biochemistry, 23 [10] 2268-74 (1984).
105. Wensel, T.G., Chang, C.-H. and Meares, C.F. Biochemistry, 24 [12] 3060-9 (1985).
106. Kuwahara, J., Suzuki, T. and Sugiura, Y. Biochem. Biophys. Res. Commun., 192 [2] 368-74 (1985).
107. Acharé, A. and Neidle, S. Acta Crystallogr., -- Sect B, B32 [2] 600-2 (1976).
108. Gellert, M.T., et al. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S., 73 [11] 3872 (1976).

109. Castora, F.J., Vissering, F.F. and Simpson, M.V. --  
Biochim. Biophys. Acta, 740 [4] 417-27 (1983).
110. a) Mendoza, G. Estudio de la interacción del ácido  
nalidíxico con metales de transición. Tesis maes--  
tria. Facultad de Química. U.N.A.M. (1983).
- b) Arevalo, A.R. Compuestos de coordinación con --  
ácido nalidíxico en etanol, síntesis y caracteriza--  
ción. Tesis licenciatura. Facultad de Química. -  
U.N.A.M. (1987).
111. García, J.J. Compuestos de coordinación con cinoxa  
cina, síntesis y caracterización. Tesis licenciatur  
a. Facultad de Química. U.N.A.M. (1985).
112. Bremauntz, M.P. Estudio de compuestos de coordina--  
ción del antibiótico ácido oxolínico con iones metál  
licos de transición. Tesis licenciatura. Facultad  
de Química. U.N.A.M. (1987).
113. Crumplin, G.C. and Smith, J.T. Nature, 260 643-5  
(1976).
114. Cole, A., Goodfield, J. and Williams, D.R. Inorg.  
Chim. Acta, 92 91-7 (1984).
115. Deitz, W.H., Cook, T.M. and Goss, W.A. J. Bacteriol.,  
91 [2] 768-73 (1984).

116. Experiencia clínica y de laboratorio con cinoxacina.  
Eli Lilly y Cfa. de México, S.A. de C.V.
117. Ruzicka, E., Lasovsky, J. and Brozdil, P. Chem. --  
Zvesti, 29 [4] 517-20 (1975).
118. Jokovicjevic, I.M. Analitical Chemistry, 49 [13]  
2048-50 (1977).
119. Vachek, J. and Kakar, B. Cesk. Farm., 25 [8] 321-2  
(1976).
120. Bailey, A.J.C., et al. Int. Jor. Pharm., 22 283-90  
(1984).