



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

TRABAJO FIN DE GRADO

ESTUDIO DE LA ANHIDRASA CARBÓNICA EN LA ENFERMEDAD DEL
GLAUCOMA.

RELACIÓN ESTRUCTURA-ACTIVIDAD DE POTENCIALES FÁRMACOS.

Autor: Sonia Cabornero Huecas

Fecha: Febrero 2020

Tutor: Carmen Luisa del Campo Pérez

ÍNDICE

RESUMEN.....	3
ABSTRACT.....	3
I. INTRODUCCIÓN.....	4
→GLAUCOMA.....	4
❖ Aspectos generales y clasificación.....	4
❖ Fisiopatología.....	4
• Factor mecánico.....	5
• Factor isquémico.....	5
• Factor oxidativo.....	6
• Factor neurotóxico.....	7
❖ Evolución y daño.....	7
❖ Tratamiento.....	9
→ANHIDRASA CARBÓNICA.....	9
❖ Generalidades.....	9
❖ Estudio de la anhidrasa carbónica en el tratamiento del glaucoma.....	10
❖ Inhibidores de la anhidrasa carbónica.....	10
II. OBJETIVOS.....	12
III. METODOLOGÍA.....	12
IV. RESULTADOS Y CONCLUSIÓN.....	12
❖ Avance en la terapia del glaucoma	
• 2-bencilpiperazinas.....	12
• Xantatos y tritiocarbonatos.....	15
V. CONCLUSIÓN.....	18
VI. BIBLIOGRAFÍA.....	18

RESUMEN

El glaucoma se caracteriza por la pérdida, en un principio asintomática, de células ganglionares que se puede manifestar a largo plazo en forma de ceguera. En esta patología influyen diferentes factores de riesgo cruciales para el desarrollo de la enfermedad, por lo que la principal forma de manejarla es llevando a cabo un diagnóstico y tratamiento temprano.

Dicha terapia habitualmente se basa en el tratamiento con diferentes grupos farmacológicos entre los que tienen gran influencia los inhibidores de la anhidrasa carbónica, ya que se encargan de disminuir de forma indirecta el humor acuoso.

A causa del interés creciente de este grupo de fármacos, se están estudiando nuevas líneas para la terapia del glaucoma. Estas tratan de sustituir los grupos terapéuticos utilizados habitualmente para tratar esta enfermedad, por otros distintos que se unen de forma similar a las diferentes isoformas de la enzima, pero que poseen mayor capacidad inhibitoria. Esto se traduce en que el interés de estas nuevas investigaciones se base en la disminución de los efectos secundarios y en la mayor selectividad por las isoformas de la enzima.

Palabras clave: Glaucoma, presión intraocular, células ganglionares, anhidrasa carbónica, isoforma, sulfonamida, humor acuoso.

ABSTRACT

Glaucoma is characterized by the loss, initially asymptomatic, of ganglion cells that can manifest in the long term in the form of blindness. Different crucial risk factors for the development of the disease influence this pathology, so the main way to manage it is by carrying out an early diagnosis and treatment.

Such therapy is usually based on treatment with different pharmacological groups among which carbonic anhydrase inhibitors have a great influence, since they are responsible for indirectly decreasing aqueous humor.

Because of the growing interest of this group of drugs, new lines for glaucoma therapy are being studied. These try to replace the therapeutic groups commonly used to treat this disease, with different ones that bind similarly to the different isoforms of the enzyme, but with a different inhibitory capacity. This means that the interest of these new investigations is based on the reduction of side effects and the greater selectivity of the enzyme isoforms.

Key words: Glaucoma, intraocular pressure, ganglion cells, carbonic anhydrase, isoform, sulfonamide, aqueous humor.

I. INTRODUCCIÓN

GLAUCOMA

Aspectos generales y clasificación

El glaucoma es una neuropatía óptica progresiva que actualmente afecta a 60 millones de personas en todo el mundo⁽¹⁾, pudiendo incrementarse estos valores hasta 80 millones en 2020, a causa del crecimiento y envejecimiento de la población⁽²⁾. Esta enfermedad se caracteriza por ser la principal causa mundial de ceguera irreversible, siendo el 10% de la población que padece glaucoma, afectada por ceguera bilateral⁽³⁾.

Este trastorno se caracteriza por la pérdida del tejido neural (células ganglionares y sus axones), la activación de las células gliales (astrocitos), la remodelación de tejidos que conllevan a una excavación de la cabeza del nervio óptico y la reducción del flujo sanguíneo como consecuencia de la atrofia del tejido⁽⁴⁾.

Comúnmente, el glaucoma se puede organizar en dos categorías dependiendo del ángulo iridocorneal, siendo estas, glaucoma de ángulo abierto y glaucoma de ángulo cerrado. Ambos tipos pueden ser primarios, o secundarios si se atribuyen a otras causas como puede ser, el resultado del síndrome de pseudoexfoliación o del uso prolongado de esteroides, entre otras^{(1) (5)}.

Se conoce como glaucoma de ángulo abierto al tipo de glaucoma más frecuente⁽³⁾, que presenta un ángulo iridocorneal amplio y es provocado por una obstrucción lenta de los canales de drenaje. En cambio, el glaucoma de ángulo cerrado se caracteriza por un aumento de la presión intraocular como resultado del estrecho ángulo generado entre el iris y la córnea que impide el adecuado drenaje del humor acuoso. El iris bloquea la malla trabecular, por lo que el ángulo iridocorneal se cierra y es lo que provoca un aumento de los niveles de presión intraocular^{(5) (6)}.

Además de los mencionados, también son comunes el glaucoma de tensión normal, caracterizado por generar un daño en el nervio óptico provocado por una excavación en el disco óptico, pero sin aumento aparente de la presión intraocular y el glaucoma congénito, existente desde el periodo prenatal por un incorrecto desarrollo en los canales de drenaje del ojo^{(3) (5)}.

Fisiopatología

El glaucoma es una patología multifactorial⁽³⁾ que implica daño ganglionar tras la combinación de factores de riesgo, siendo la presión intraocular el más frecuente, aunque no necesario para la aparición de la enfermedad.

Además, las bases biológicas del glaucoma no se entienden del todo⁽⁷⁾, pero se ha estudiado cierta relación entre la presión intraocular y la destrucción de las células ganglionares.

- **Factor mecánico**

La presión intraocular (PIO) permanece estable cuando el flujo de entrada y el de salida son equivalentes, siendo el flujo de entrada, el humor acuoso secretado por el cuerpo ciliar hacia la cámara anterior y el flujo de salida, aquel que drena tanto por la vía uveoscleral como por la malla trabecular, siendo ambas vías independientes ⁽¹⁾. [Ilustración 1 ⁽⁷⁾]

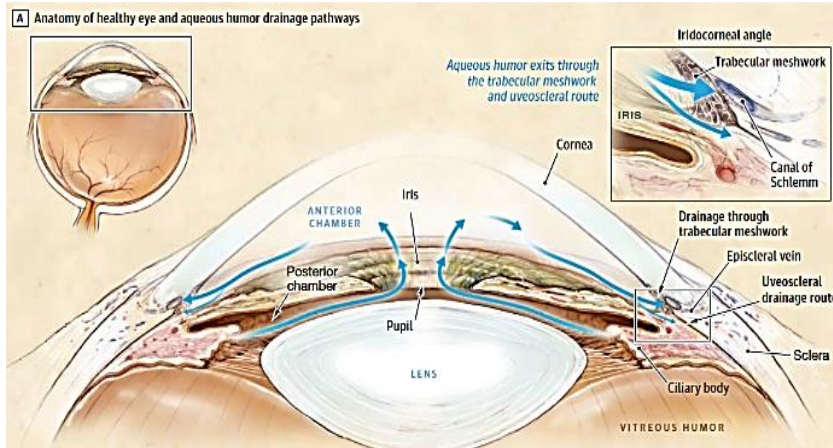


Ilustración 1. Ciclo de circulación del humor acuoso en un ojo sano

El aumento de presión intraocular, hasta valores de 25-30 mmHg ⁽⁸⁾, se produce a causa del fallo de alguna de las vías de salida de humor acuoso [Ilustración 2 ⁽⁷⁾]. Este aumento se asocia a una progresión débil de la enfermedad, por ello, una presión intraocular elevada no conduce al desarrollo de neuropatía óptica glaucomatosa en todos los sujetos ⁽⁴⁾. Este es el motivo por el cual se considera la existencia de un mayor número de factores de riesgo implicados.

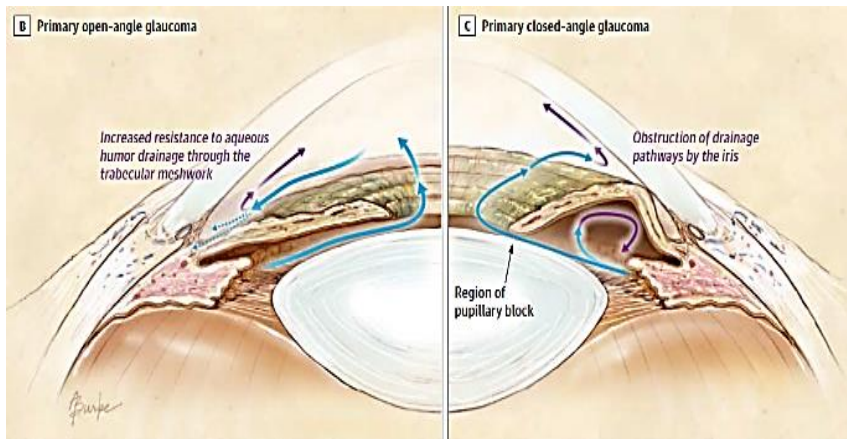


Ilustración 2. En la figura B se muestra la interrupción del flujo del humor acuoso a causa de glaucoma de ángulo abierto. En la figura C se muestra la interrupción del flujo del humor acuoso a causa de glaucoma de ángulo cerrado.

- **Factor isquémico**

Dentro de los factores involucrados se encuentra el flujo sanguíneo ocular ⁽¹⁾ ⁽⁹⁾, ya que en pacientes con glaucoma se modifica, quedando reducido, aunque dicha característica no es exclusiva de esta patología. La reducción del flujo conduce a un nervio óptico atrófico, pero no genera daño glaucomatoso. Esto se puede explicar ya que el vínculo entre el glaucoma y el flujo sanguíneo ocular no es tanto a causa de la reducción del flujo sanguíneo sino, más bien, debido a la inestabilidad del mismo ⁽⁹⁾ ⁽¹⁰⁾. Esta inestabilidad del flujo sanguíneo ocular se genera a causa de la fluctuación de la presión intraocular a un alto nivel o de la presión arterial a un bajo nivel, cualquiera de los dos casos da lugar a una autorregulación que excede de su capacidad normal ⁽⁴⁾.

Relacionando los conceptos anteriores, se ha estudiado que la fluctuación de la PIO a altos niveles junto con una autorregulación normal ⁽⁴⁾ ⁽¹⁰⁾ es similar a poseer una fluctuación de la PIO en rango normal con una autorregulación perturbada.

El suministro de sangre que requiere cada órgano varía ⁽¹¹⁾, por lo que se necesita un flujo sanguíneo que permita su regulación. Además, también se exige una adaptación de la presión de perfusión al igual que de la resistencia de los vasos sanguíneos. Cuando no se genera una adaptación adecuada, se produce una autorregulación perturbada ⁽⁴⁾ ⁽¹⁰⁾. La causa principal por la que se produce es el síndrome de desregulación vascular primaria. Esta desregulación genera un gran impacto en la autorregulación, en cambio, tiene ligera incidencia sobre el flujo sanguíneo ocular, por ello, es un factor de riesgo importante en la neuropatía óptica glaucomatosa.

La desregulación vascular primaria ⁽⁴⁾ ⁽¹¹⁾ puede diagnosticarse porque tiene un componente heredado, siendo su principal manifestación las extremidades frías. Es un desorden mayoritario en mujeres que se inicia en la pubertad, por la presencia de estrógenos, y va disminuyendo con la edad hasta llegar a mitigarse tras la menopausia. Esto también puede explicar la producción de hemorragias en astilla en la cabeza del nervio óptico más común en pacientes que padecen glaucoma de tensión normal y que estas sean más frecuentes en mujeres, aunque también pueden producirse manifestaciones en hombres, donde la testosterona tendrá un papel fundamental.

Asimismo, la desregulación vascular primaria explica la causa de que algunos pacientes con bajos niveles de presión arterial (con flujo sanguíneo disminuido) puedan adquirir daño y otros, en cambio, no. Si la presión arterial baja es debido a un fallo en la autonomía del sistema nervioso la autorregulación funciona de forma correcta, en cambio, si es debido a una desregulación vascular primaria, se manifiesta con una autorregulación perturbada.

Esta autorregulación perturbada provoca una reducción del flujo sanguíneo, pero este puede ser reversible generando una lesión por reperfusión ⁽⁴⁾ que se define como el daño causado a los tejidos cuando el flujo de sangre vuelve a los mismos tras haber sufrido un periodo de isquemia.

- *Factor oxidativo*

En el caso del glaucoma esta lesión de reperfusión es leve pero repetida y cuando se produce, genera a su vez un daño inflamatorio y oxidativo ⁽⁴⁾ ⁽¹²⁾. Particularmente, se origina un mayor estrés oxidativo en la cabeza del nervio óptico, a causa de las abundantes mitocondrias allí localizadas, ya que se trata de fibras nerviosas de alto consumo por carecer de vainas de mielina. Este estrés oxidativo es el encargado de generar enfermedades inflamatorias y degenerativas dentro de las que se incluye el glaucoma.

Para evitar la abundancia del mismo se utilizan moléculas que penetran hasta la membrana interna de las mitocondrias localizadas en el nervio óptico. Entre estos elementos se incluye el ginkgo, las antocianinas de los arándanos, la melatonina, la ubiquinona (coenzima Q₁₀) y compuestos con flavonoides polifenólicos entre los que se incluye el té verde o negro, el café, el chocolate negro o el vino tinto ⁽¹²⁾.

Para confirmar la presencia del estrés oxidativo se producen cambios en la expresión génica, utilizando linfocitos y astrocitos para su evaluación. Ambos se utilizan como biomarcadores ⁽⁴⁾ ⁽¹¹⁾, ya que los linfocitos cambian su expresión génica en presencia de una lesión cerebral y los astrocitos expresan complejos MHC-II que indican la comunicación de estos con el sistema inmune, sobre todo en reperfusión. Además, si ocurre una lesión de reperfusión se espera un mayor número de rupturas de ADN, una regulación positiva tanto de endotelina como de metaloproteinasas (MMP) y un aumento de la actividad de proteosomas.

- *Factor neurotóxico*

Igualmente, se produce una regulación positiva de la molécula de óxido nítrico sintasa ⁽⁴⁾ ⁽¹²⁾ en pacientes con glaucoma, que causa un aumento de óxido nítrico (NO). Este por sí solo no es perjudicial, pero es un pequeño radical capaz de alcanzar los axones, donde hay un exceso de radicales superóxidos causados por la lesión de reperfusión, por lo que conduce a la formación de peroxinitrito, pudiendo llegar a causar la muerte de células ganglionares.

Evolución y daño

En un inicio esta patología se muestra asintomática ⁽¹⁾ ⁽⁷⁾ (de la mitad de los afectados solamente el 10% tiene conocimiento de ello), pero conlleva a una degeneración lenta y progresiva de las células ganglionares de la retina y sus axones. Esto se genera debido a que las neuronas del ojo afectadas tienen el cuerpo celular en la retina y los axones en el nervio óptico, dando lugar a una apariencia diferente del disco óptico ligado a una pérdida de visión. Esta degeneración del disco óptico se manifiesta en forma de ventosas ⁽¹⁾, que es lo que diferencia el glaucoma de otras neuropatías ópticas. [Ilustración 3 ⁽²⁾]

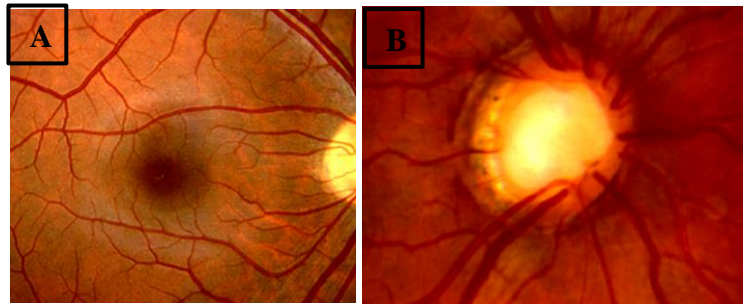


Ilustración 3. La imagen A muestra la apariencia de un ojo sano. En cambio, la imagen B presenta apariencia del nervio óptico en un ojo glaucomatoso, que posee una excavación y palidez mayor del disco óptico.

En el disco óptico, ⁽⁷⁾ de forma fisiológica, se produce la convergencia de las neuronas ganglionares generando una depresión central bastante reducida al salir del ojo, atravesando la lámina cribosa y concluyendo su recorrido en el núcleo geniculado lateral del tálamo, que es el responsable de recibir la información. En el caso de PIO elevada, se produce un estrechamiento y una depresión mayor del disco óptico, que contribuye a una distorsión de la lámina cribosa, generando una degeneración apoptótica de células ganglionares. Estos cambios generan alteraciones en las células del nervio óptico (donde se encuentran los astrocitos y la microglía), remodelación de la matriz extracelular, alteración de la microcirculación y finalmente, atrofia de las neuronas que transmiten la información de la retina hacia el núcleo geniculado lateral. [Ilustración 4 ⁽⁷⁾]

Además de la pérdida de células ganglionares por apoptosis, las células de apoyo en la retina como las células Müller y los astrocitos, pueden dañarse en el glaucoma ⁽⁴⁾. Esta disfunción se debe a causa de un insulto primario, ya sea por la pérdida de la función protectora o por la liberación descompensada de toxinas por parte de las células ganglionares.

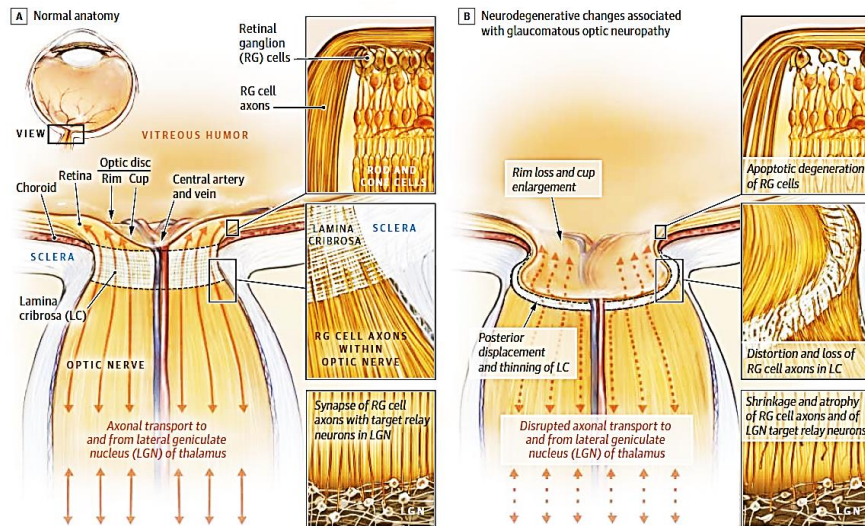


Ilustración 4. En la figura A se muestra la anatomía de un ojo sano incidiendo sobre el disco óptico y la salida de los axones de las células ganglionares que atraviesan la lámina cribrosa. En la figura B se observa la anatomía de un ojo glaucomatoso.

Cuando la enfermedad pasa a ser sintomática ⁽⁷⁾ se genera una pérdida de visión que va acompañada de una reducción de la calidad de vida y de una mayor dificultad para realizar actividades diarias, aunque esto depende de los estocomas (de su localización, densidad y si son unilaterales o bilaterales).

La evolución puede ser tanto rápida como lenta, afectando primero a las fibras nerviosas localizadas en la capa externa que proporcionan visión periférica y dañando a continuación las capas de fibras internas que generan la visión central. Debido a este modo de evolución de la enfermedad, la pérdida de la visión es gradual generando primero oscuridad lateral que se traduce en visión de túnel y produciendo un mayor campo de oscuridad según esta avanza. [Ilustración 5 ⁽¹³⁾]

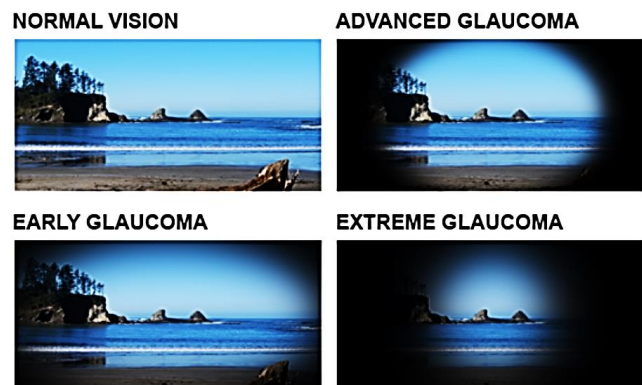


Ilustración 5. Muestra de la pérdida de visión a medida que se va desarrollando el glaucoma, pudiendo progresar hasta ceguera. Cuando se padece de visión normal, puede estar ya instaurado el desarrollo de la enfermedad.

Para evitar su progresión, es importante el diagnóstico temprano ⁽¹²⁾ y tener en cuenta los factores de riesgo asociados. Hay que considerar el factor más conocido de la neuropatía óptica glaucomatosa, que es la elevada PIO, aunque no sea significativo en todos los pacientes ⁽⁷⁾. Prácticamente en todos los enfermos, la reducción de la PIO mejora el pronóstico, siendo más beneficiados los diagnosticados con glaucoma de ángulo cerrado, seguido de los que poseen glaucoma primario de ángulo abierto.

Para controlar el aumento de la PIO, se deben evitar factores de riesgo como edad, tabaquismo, diabetes mellitus, dislipemia e hipertensión sistémica, entre otros. Hay una gran evidencia de que la hipertensión arterial sistémica es un factor de riesgo relevante para la adquisición de glaucoma, aunque depende de la autorregulación del sujeto ⁽⁴⁾.

Al hablar de los factores de riesgo, ⁽⁴⁾ ⁽⁵⁾ también hay que tener en cuenta el tipo de paciente tratado, ya que hay cierta variación entre estos; en pacientes con glaucoma de tensión normal los factores que predominan en el desarrollo de la enfermedad son el sexo femenino, la raza,

la desregulación vascular primaria y la baja presión arterial. En cambio, en pacientes con glaucoma de ángulo abierto son los antecedentes familiares, la miopía elevada y la raza negra. También, es más frecuente presentar glaucoma de ángulo cerrado en pacientes que posean ojos pequeños e hipermétropes y en aquellos de descendencia asiática ⁽⁶⁾.

Tratamiento

El tratamiento del glaucoma ^{(1) (2) (14)} se puede realizar mediante la administración de fármacos, cirugía, implantes o nuevas terapias que aún siguen en investigación. Estas formas de tratarlo hacen que se lleve a cabo la reducción del flujo de sangre hacia el cuerpo ciliar o el aumento de la salida del humor acuoso, es decir, todo ello conlleva a una disminución de la presión intraocular, que sería la única forma de tratarlo.

Entre los fármacos ⁽¹⁾ más utilizados se encuentran:

- **Agonistas colinérgicos**: disminuyen la producción y favorecen el aumento del drenaje de humor acuoso generando una contracción en el cuerpo ciliar. Para ello, pueden unirse a los receptores de acetilcolina o inhibir indirectamente a la acetilcolinesterasa. Dentro de estos se encuentra la Brimonidina.
- **β -bloqueantes**: se administran junto a agonistas colinérgicos en personas intolerantes a prostaglandinas. Además, se pueden administrar ellos solos de forma tópica ya que se encargan de disminuir la producción del humor acuoso, aunque generan un gran número de efectos secundarios. Un ejemplo representativo sería el Timolol.
- **Análogos de prostaglandinas**: son los más novedosos y la primera línea de tratamiento. Inciden sobre el aumento de la salida del humor acuoso por la vía uveoscleral. Incluido en este grupo estaría el Lantanoprost.
- **Inhibidores de anhidrasa carbónica**: es el grupo de fármacos mejor entendido a nivel molecular y actúan disminuyendo la producción del humor acuoso. La Dorzolamida se encuentra dentro de este grupo.

ANHIDRASA CARBÓNICA

Generalidades

La anhidrasa carbónica (AC) es una metaloenzima que cataliza la hidratación de dióxido de carbono produciendo bicarbonato y protones ⁽¹⁵⁾.

El mecanismo de la anhidrasa carbónica es fundamental para muchos procesos fisiológicos ⁽¹⁵⁾ ⁽¹⁶⁾ como el mantenimiento del pH, la homeostasis del bicarbonato, el metabolismo óseo y la tumoración. Aunque esta enzima está implicada en múltiples procesos, su función principal es el mantenimiento del equilibrio ácido-base en la sangre y los tejidos, que a su vez favorece la expulsión del dióxido de carbono de estos.

Esta enzima engloba diferentes familias ⁽¹⁶⁾ de las cuales α -AC es la que se expresa en mamíferos, plantas y algas; β -AC existe en bacterias, algas y hongos; δ -AC y ζ -AC se encuentran en diatomeas marinas y η -AC en protozoos. Actualmente, la investigación de la anhidrasa carbónica se centra en la α -AC, ya que se intenta generar un avance en el tratamiento de las diferentes enfermedades en las que está implicada.

En humanos (α -AC) se encuentran 16 isoformas diferentes ⁽¹⁵⁾ ⁽¹⁶⁾ distribuidas en diversas localizaciones: hCA I, II, III, VII y XIII se localizan en el citosol; hCA IV, IX, XII, XIV, XV se sitúan ligados a la membrana; hCA V tiene una ubicación mitocondrial y hCA VI se secreta con la saliva.

La α -AC está formada ⁽¹⁶⁾ por un dominio catalítico y en su sitio activo posee una molécula de zinc junto con residuos hidrofóbicos (como residuos de Histidina localizados en el bolsillo) e hidrofílicos (incluyendo la molécula de agua/ión hidróxido). [Ilustración 6 ⁽¹⁷⁾]

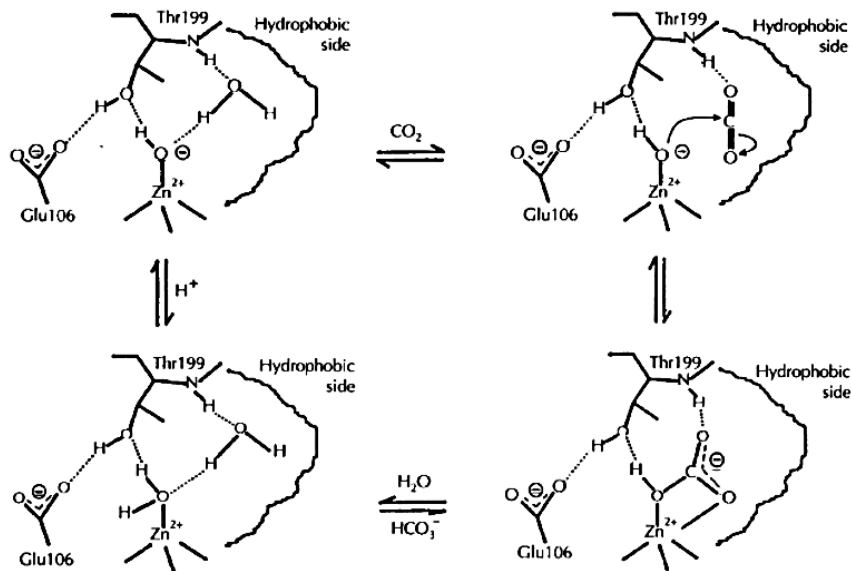


Ilustración 6. Esquema del mecanismo enzimático de la anhidrasa carbónica.

Estudio de la Anhidrasa Carbónica en el tratamiento del glaucoma

El humor acuoso (HA) se localiza en la cámara anterior y, en condiciones fisiológicas ⁽¹⁾ ⁽¹⁸⁾, se secreta y discurre desde su posición inicial, pasando por la malla trabecular hasta el canal de Schlemm y dirigiéndose finalmente hacia los vasos sanguíneos. Cuando se trata de un ojo glaucomatoso, el mal funcionamiento de la malla trabecular impide que el HA fluya libremente, generando un aumento del mismo en la cámara anterior.

Esta enzima se relaciona con la enfermedad del glaucoma ⁽¹⁶⁾ ⁽¹⁸⁾ debido a que la α -AC favorece la hidratación del dióxido de carbono generando la presencia de iones bicarbonato.

En un ojo glaucomatoso se genera un aumento anormal de la producción de humor acuoso y este contiene gran cantidad de iones bicarbonato. Por ello, se facilita el incremento de estos iones debido a la actuación de la enzima anhidrasa carbónica y como consecuencia, se favorece el aumento de la PIO en el ojo. Esta puede disminuir por una inhibición de la AC, que generaría una reducción indirecta de iones bicarbonato, y con ello, un descenso en los niveles HA.

Inhibidores de Anhidrasa Carbónica

Desde hace 60 años, los inhibidores de la anhidrasa carbónica se han utilizado como diuréticos y antiepilépticos, pero también han sido empleados para el tratamiento del glaucoma ⁽¹⁹⁾. Esto se relaciona con las diferentes isoformas. Los fármacos que actúan inhibiendo hCA I son

utilizados para el tratamiento del edema cerebral y retiniano, mientras que los que actúan en hCA II son diuréticos y se emplean en el tratamiento de edemas, glaucoma, epilepsia y vértigo. En cambio, los inhibidores de hCA IX y XII son usados para el tratamiento de tumores sólidos (20).

Los inhibidores de la anhidrasa carbónica son una de las principales clases de medicamentos utilizados en la terapia del glaucoma (1). En el tratamiento de primera generación se incluyeron los inhibidores de anhidrasa carbónica sistémicos (acetazolamida, metazolamida, etoxzolamida y diclorfenamida) (8) (15). Estas sulfonamidas inhiben las enzimas que intervienen en procesos ciliares, disminuyendo con ello la producción de bicarbonato y el humor acuoso, que se traduce en una disminución de la PIO en un 20-30%. El uso de estos fármacos no es selectivo para el ojo, sino que intervienen en diferentes isoformas localizadas en otros tejidos, lo que genera abundantes efectos secundarios. [Ilustración 7 (8)]

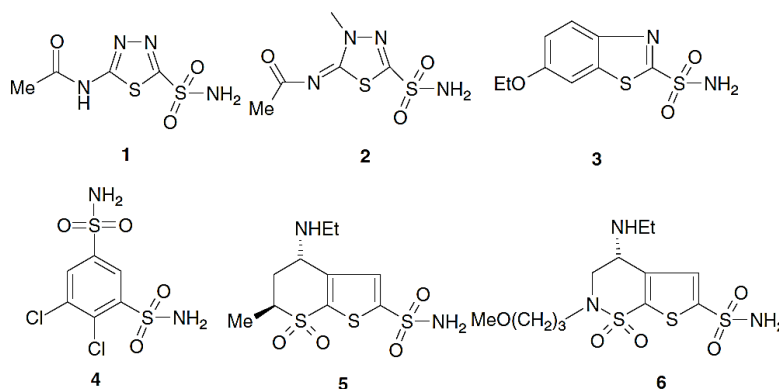


Ilustración 7. Estructura de las moléculas empleadas para el tratamiento del glaucoma; 1-Acetazolamida; 2-Metazolamida; 3-Etoxzolamida; 4-Diclorfenamida; 5-Dorzolamida; 6-Brinzolamida.

Debido a esto, se plantea una segunda generación de fármacos que actúan tópicamente, dentro de la cual se incluyen la Dorzolamida y Brinzolamida. Son tratamientos que actúan contra las isoformas II y XII, que poseen una constante de inhibición con valores nanomolares, junto con propiedades como buena solubilidad en agua y suficiente liposolubilidad como para penetrar en la córnea. Estos fármacos se utilizan con el fin de disminuir la PIO, generando menos efectos secundarios que los de origen sistémico.

También se plantea la existencia de otro grupo de fármacos, los de tercera generación. Se denominan “enfoco de cola” porque están formados por la unión de grupos funcionales solubles unidos a moléculas de sulfonamidas aromáticas o heterocíclicas que poseen grupos derivados de restos de tipo amino, imino o hidroxilo. Dichos fármacos poseen baja constante de inhibición con valores nanomolares, buena solubilidad en agua, buena permeabilidad en la córnea y, además, buenas propiedades en cuanto a la disminución de PIO. Estos últimos fueron probados en ensayos y mostraron 2-3 veces más eficacia que los de segunda generación, aunque no llegaron a desarrollarse en la práctica clínica (8).

Actualmente en España, existen comercializados varios medicamentos inhibidores de la anhidrasa carbónica tanto de uso sistémico (raramente indicado) como de uso tópico. Ambas formas son utilizadas teniendo en cuenta sus efectos secundarios, para disminuir la cantidad de humor acuoso y mejorar el flujo de este hacia el exterior. Los medicamentos utilizados son (21) (22); Trusopt (Dorzolamida), Azopt (Brinzolamida), Diamox (Acetazolamida) y Neptazane (Metazolamida).

II. OBJETIVOS

El objetivo principal es el estudio de la enfermedad del glaucoma contemplando la relación que mantiene con la enzima anhidrasa carbónica, así como la búsqueda de nuevos agentes terapéuticos útiles para el tratamiento además de los ya existentes, que puedan sustituir a la terapia empleada actualmente, generando una disminución de los efectos adversos y un incremento en la actividad inhibitoria.

III. MATERIAL Y MÉTODOS

La elaboración del trabajo se plantea como una búsqueda bibliográfica acerca de la implicación de fármacos que actúan sobre la anhidrasa carbónica, junto con los avances en terapéutica.

Para su realización, se ha recogido información de diferentes fuentes bibliográficas on-line entre las que se incluyen PubMed, ScienceDirect, Elsevier y Google Académico, donde la mayoría de información contrastada se encuentra en forma de artículos, tanto en inglés como en español. La búsqueda de la información objeto de este trabajo se ha realizado mediante el empleo de las palabras clave ya mencionadas, escogiendo los artículos de acuerdo al año de publicación, para que la información sea lo más actualizada posible.

Junto a las anteriores, se han utilizado otro tipo de fuentes como BUCea (Biblioteca de la Universidad Complutense) para ampliar la búsqueda y disponer de más información, que se encuentra incluida en libros on-line y la página de la AEMPS, para la consulta de fichas técnicas de medicamentos. También se obtuvo información de organismos oficiales como la Sociedad Española de Oftalmología (SEO).

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los fármacos antiglaucoma más comunes que se emplean para la inhibición de la anhidrasa carbónica son las sulfonamidas y sus isómeros. Estos han sido los fármacos dominantes durante un largo periodo de tiempo.

A causa de los numerosos efectos secundarios de las sulfonamidas ⁽⁸⁾ por el hecho de inhibir varias de las isoformas de la anhidrasa carbónica, se planteó la necesidad de buscar nuevos agentes terapéuticos.

Avance en la terapia del glaucoma

2-Bencilpiperazina

Entre los compuestos que permiten el progreso del estudio de tratamientos para el glaucoma se encuentra la molécula de 2-bencilpiperazina unida ⁽¹⁹⁾ en 4 a un grupo sulfamoilbenzamida y por el otro nitrógeno de la piperazina a un grupo alquil/acil/sulfamoil. [Ilustración 8 ⁽¹⁹⁾]

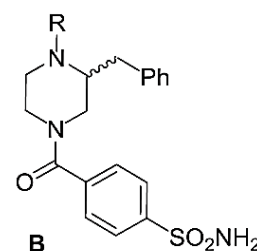


Ilustración 8. Modelo químico de inhibidores de AC que contienen el grupo 2-bencilpiperazina

El sitio activo de la enzima posee ⁽²³⁾ un área hidrofóbica que interactúa con el grupo bencil de la molécula, un área hidrofílica que genera una interacción con la amina cargada y una molécula de zinc que se siempre se encuentra unida al grupo sulfamida⁽¹⁹⁾. A diferencia del grupo sulfonamida, la piperazina debido a su estereoquímica y flexibilidad del anillo, permite diferentes interacciones. [Ilustración 9 ⁽¹⁹⁾]

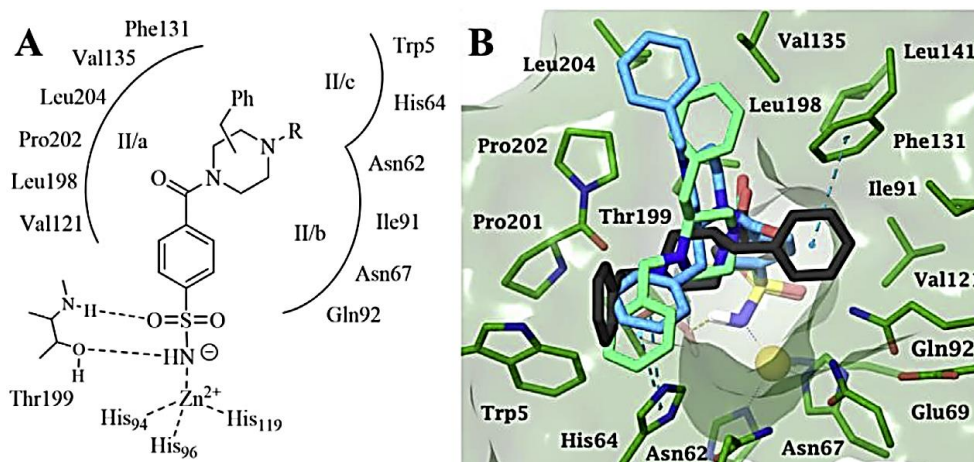


Ilustración 9. Modo de unión al sitio activo de inhibidores de AC que contienen 2-bencilpiperazina

Todavía no queda clara la influencia de la posición del grupo de unión al zinc (ZBG), ya que en algunos compuestos se encuentra unido al nitrógeno proximal y en otros al distal. Tampoco se conoce con seguridad la influencia de N-sustituyentes en la actividad, por lo que estas dos características complican aún más la relación estructura-actividad (SAR) ⁽¹⁹⁾.

Además de tener en cuenta el diseño de las interacciones de los inhibidores con las diferentes isoformas de la enzima (hCA I, hCA II, hCA IV, hCA IX), hay que tener en consideración el centro estereogénico junto con los grupos R¹ y R², siendo estos los diferentes sustituyentes unidos a cada uno de los dos nitrógenos de la piperazina, que es lo que genera potencia y selectividad ⁽²⁴⁾ ⁽²⁵⁾. Las isoformas I y II no tienen preferencia por ninguna de las dos configuraciones, mientras que hCA IV lo tiene por el enantiómero R y hCA IX por el S ⁽¹⁹⁾.

Se realizó una comparación de la actividad inhibitoria de cada una de las isoformas, para así conocer el diferente grado de potencia que tiene cada uno de los compuestos sobre estas, usando como compuesto de referencia la acetazolamida (AAZ). Además de la potencia, se comparó la relación eudística de dichos compuestos ⁽¹⁹⁾.

Como compuestos más potentes para hCA I, es decir con valores de la constante de inhibición (K_i) menores de 10 nM, se vieron las estructuras de (R)-6, (R)-8 y (R)-11. En cuanto a la isoenzima hCA II, isoforma más involucrada en la secreción de humor acuoso, se determinó mayor potencia para el derivado (S)-17, aunque la mayoría de los compuestos poseen valores de K_i nanomolares. Para hCA IV, la estructura de (R)-11 mostró una mayor potencia, no obstante, casi todos los R-isómeros tienen valores bajos de K_i mostrando con ello mayor potencia que el compuesto de referencia AAZ. A diferencia de las isoformas anteriores, la hCA IX es la menos sensible a la actividad de estas moléculas, por lo que solo los compuestos (S)-1 y (S)-7 tienen una actividad similar a la del compuesto de referencia, mientras que los demás poseen una potencia de 3 a 105 veces menor [Tabla 1 ⁽¹⁹⁾].

N	R ^{1a}	R ^{2a}	hCA I K _i (nM)	ER ^b	hCA II K _i (nM)	ER ^b	hCA IV K _i (nM)	ER ^b	hCA IX K _i (nM)	ER ^b
(S)-1	ZBG	CH ₂ Ph	88.9	0.20	46.0	0.26	79.3	1	27.9	0.011
(R)-1			455.7		176		66.9		2639.1	
(S)-2	ZBG	H	421.9	48	264.5	33	75.4	13	93.0	0.06
(R)-2			8.7		8.1		5.6		1442	
(S)-3	ZBG	CH ₃	707.0	19	358.6	48	342.5	95	1431.9	1
(R)-3			37.7		7.6		3.6		1206.9	
(S)-4	ZBG	CH ₃ CO	9.6	0.44	7.7	0.20	6.0	2	170	1
(R)-4			21.8		38.9		2.9		197.8	
(S)-5	ZBG	PhCO	82.8	2	61.3	2	7.8	0.06	227	1
(R)-5			44.3		33.4		133.4		205.0	
(S)-6	ZBG	PhCH ₂ CO	29.5	10	6.8	1	5.4	2	191	1
(R)-6			2.9		4.8		2.3		166.1	
(S)-7	ZBG	CH ₃ SO ₂	186	6	161	21	72.5	36	31.6	0.14
(R)-7			29.0		7.5		2.0		232.3	
(S)-8	ZBG	PhSO ₂	330.3	92	59.3	8	7.8	2	83.0	0.07
(R)-8			3.6		7.6		3.6		1206.9	
(S)-9	H	ZBG	60.7	1	83.4	5	29.3	6	225.1	0.13
(R)-9			49.4		15.4		4.6		1717.9	
(S)-10	CH ₂ Ph	ZBG	22.1	0.06	8.3	0.14	73.3	32	249.2	0.59
(R)-10			380.2		60.7		2.3		418.5	
(S)-11	CH ₃	ZBG	568.6	146	327.8	61	146	86	1716.3	1
(R)-11			3.9		5.4		1.7		1811.1	
(S)-12	CH ₃ CO	ZBG	8.8	0.16	7.6	0.24	66.8	20	83.7	0.37
(R)-12			55.6		32.0		3.3		227.3	
(S)-13	PhCO	ZBG	30.7	0.57	15.0	0.29	68.0	17	245	0.15
(R)-13			53.9		52.5		4.0		1659.0	
(S)-14	PhCH ₂ CO	ZBG	542.6	82	92.7	13	371.0	143	177	0.12
(R)-14			6.6		7.0		2.6		1520.4	
(S)-15	CH ₃ SO ₂	ZBG	7.9	0.26	6.0	0.19	79.7	4	74.4	0.41
(R)-15			30.6		32.3		19.0		181.1	
(S)-16	PhSO ₂	ZBG	245	5	95.1	15	62.2	7	1589.1	4
(R)-16			51.6		6.2		8.7		359.6	
(S)-17	ZBG	ZBG	6.1	0.11	2.0	0.25	139	27	104	0.04
(R)-17			57.2		7.9		5.1		2625.5	
AAZ	-	-	250	-	12	-	74	-	25	-

Tabla 1. Actividad inhibitoria de los enantiómeros sobre las isoformas I, II, IV y IX de la AC humana. El compuesto de referencia utilizado es la sulfonamida estándar, acetazolamida.

De todos los compuestos incluidos en la tabla anterior, se seleccionaron los enantiómeros (R)-2 y (R)-11 para realizar un test *in vivo*, ya que estas moléculas poseen alta potencia y es similar en las diferentes isoformas excepto en la hCA IX, que es mucho menor. Esto se traduce en la interacción de dichos compuestos con las isoformas que tienen influencia en el glaucoma, pero prescinden de unirse a la relacionada con tumores sólidos. [Ilustración 10⁽¹⁹⁾]

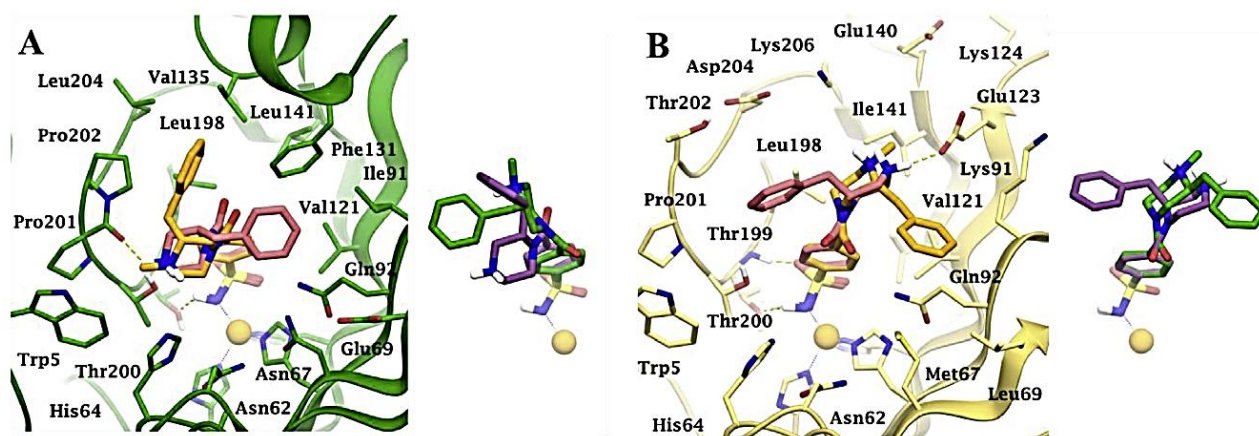


Ilustración 10. Modo de unión de los compuestos (R)-2 (rosa), (R)-11 (naranja), (S)-2 (morado), (S)-11 (verde oscuro) al sitio activo de las isoformas hCA II (A) y hCA IV (B).

Los compuestos (R)-2 y (R)-11 se administraron a conejos con alta PIO como gotas oculares al 1%, comparándolos con el fármaco de referencia (dorzolamida). Como resultado se obtuvieron valores de potencia y eficacia similares a la dorzolamida, ya que disminuyeron la PIO aproximadamente 10 mmHg, haciendo estos efectos notorios a partir de los 60 minutos y llegando al valor máximo de disminución de la PIO a los 120 minutos.

Igualmente, se realizó un test *in vivo* sobre modelos estables de glaucoma inyectando el compuesto (R)-2 y comparándolo de nuevo con el mismo compuesto de referencia que en el caso anterior. El resultado fue una disminución progresiva de la PIO al cabo de los días con respecto al vehículo. Asimismo, se puede apreciar una diferencia significativa de la disminución de la PIO entre la dorzolamida y el compuesto (R)-2, siendo este último aproximadamente dos veces más eficaz. [Ilustración 11 y 12 ⁽¹⁹⁾]

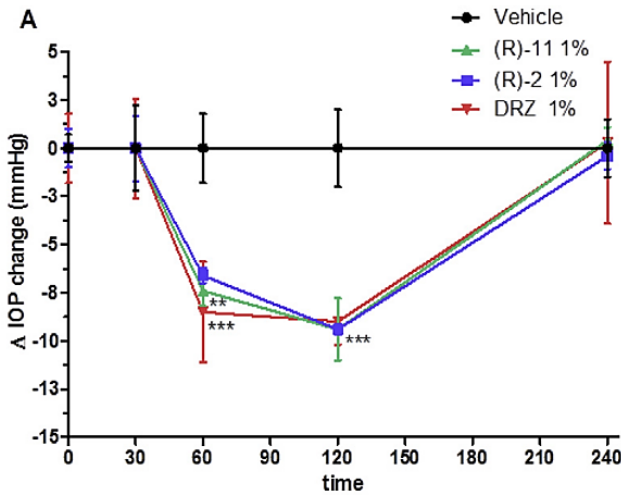


Ilustración 11. Resultados del test *in vivo* que se realizó conejos hipertensos.

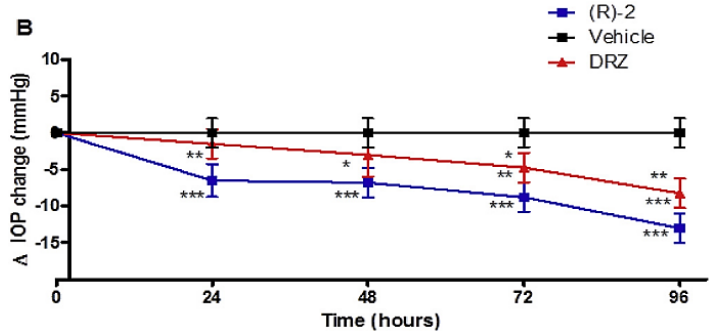


Ilustración 12. Resultados del test *in vivo* que se realizó conejos normotensos.

Xantatos y tritiocarbonatos

Junto al avance en el diseño de estos inhibidores basados en sulfonamidas, se han descubierto inhibidores de la anhidrasa carbónica novedosos como los xantatos y los tritiocarbonatos. Se plantea la utilización de estos modelos como inhibidores de AC debido a la posibilidad de coordinación de aniones inorgánicos con el zinc localizado en el sitio activo ⁽²⁶⁾ ⁽²⁷⁾.

Estos novedosos compuestos se conocen a partir de los tritiocarbonatos (CS_3^{2-}) y ditiocarbamatos, como principales precursores, cuya estructura general es $R^1R^2N-CS_2^-M^+$. Para la obtención estas estructuras se realizaron diferentes modificaciones en los ditiocarbamatos, como la sustitución del nitrógeno por oxígeno en caso de los xantatos ($RO-CS_2^-M^+$) o por azufre en caso de los tioxantatos ($RS-CS_2^-M^+$). ⁽²⁰⁾

El modo de interacción de estas moléculas se genera mediante la coordinación del zinc del sitio activo con uno de los grupos azufre que conforman estos compuestos. [Ilustración 13 ⁽²⁰⁾] Además, se establece un enlace adicional desde el grupo azufre del compuesto, mencionado

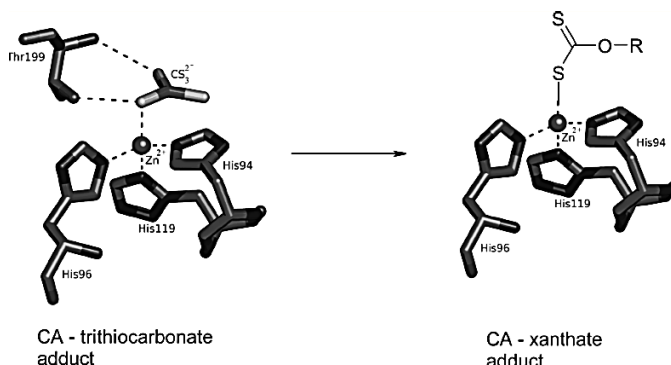


Ilustración 13. En la figura de la derecha se aprecia la unión del xantato al sitio activo y en la de la izquierda la del tritiocarbonato. Este modo de unión ocupa una una posición similar a la del complejo hCA II-bicarbonato.

previamente hasta el grupo hidroxilo del Thr199 que se encuentra en el sitio activo y una unión distinta, a partir del grupo amino del Thr199 ya citado con otro de los grupos azufre que posee la molécula, diferente al anterior.⁽²⁸⁾ También hay que tener en cuenta el contacto de estos elementos con los aminoácidos que se encuentran en el sitio activo de la enzima, ya que proporcionan un alto poder inhibitorio.

Considerando que los restos orgánicos son la principal influencia sobre la actividad inhibitoria de las diferentes isoformas^{(26) (27)}, se comprueba el poder inhibitorio de los compuestos con respecto a las diferentes isoformas humanas (hCA I, hCA II, hCA IX, hCA XII), teniendo como compuesto de referencia la acetazolamida. [Tabla 2 ⁽²⁰⁾]

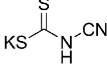

No	R-O-CSS ⁻ K ⁺		R-S-CSS ⁻ K ⁺		 (Ditiocarbamato)	
	1-18 (Xantatos)	R	19 (Tritiocarbonato)	K _i (nM)*	20	
			hCA I	hCA II	hCA IX	hCA XII
1	Me		687±32	346±23	631±54	808±46
2	Et		604±18	305±27	566±50	814±65
3	i-Pr		401±31	307±14	531±28	685±43
4	i-Amyl		638±50	298±21	322±16	561±50
5	n-C ₃ H ₁₁		384±17	361±28	403±38	766±39
6	n-C ₈ H ₁₇		351±21	337±30	72.1±6	810±76
7	cyclopentyl		532±42	366±22	47.2±3	74.7±6
8	cyclohexyl		795±61	293±14	78.8±7	75.6±4
9	Me ₂ N-CH ₂ CH ₂		327±15	60.4±5	760±45	745±29
10	Me ₂ N-CH ₂ CH ₂ OCH ₂ CH ₂		45.1±2	8.1±0.4	831±59	622±52
11	Boc-NH-(CH ₂) ₄		5.6±0.3	9.5±0.8	622±30	705±26
12	Boc-NH-(CH ₂) ₆		6.3±0.4	59.0±3	765±41	744±53
13	PhCH ₂		76.1±6	45.1±2	8.1±0.6	6.0±0.3
14	Ph ₂ CHCH ₂		64.1±5	5.4±0.4	58.0±4	63.3±4
15	2-Pyridyl-CH ₂ CH ₂		74.2±7	13.1±1.2	4.3±0.2	3.6±0.3
16	1-Adamantyl-CH ₂		81.3±6	21.5±1.8	776±54	750±52
17	1-Adamantyl-CH ₂ CH ₂		59.1±4	6.4±0.5	779±69	737±68
18			63.4±3	6.6±0.4	643±37	835±59
19	PhCH ₂		73.5±5	75.7±6	7.8±0.5	6.7±0.6
20	-		531±26	73.6±7	678±51	709±62
AAZ	-		250±13	12±0.9	25±1.7	5.7±0.3

Tabla 2. Actividad inhibitoria de los compuestos sobre las isoformas I, II, IX y XII de la AC humana. El compuesto de referencia utilizado es la sulfonamida estándar, acetazolamida.

En la isoforma hCA I, los compuestos con grupos alquilo o cicloalquilo (1-9, 20) son los que poseen una menor actividad, mientras que los compuestos que portan restos aminoalcoxi, arilalquilo o policíclicos (10, 13-19) poseen una actividad inhibitoria media, siendo los compuestos de mayor actividad los que cuentan con un grupo protector, Boc (11-12).

Como en el caso anterior, en hCA II los compuestos que llevan grupos alquilo o cicloalquilo tienen baja potencia (1-8), los compuestos 12, 13, 16, 19 y 20 tienen potencia media por sus valores de K_i y algunos xantatos como 10-11, 14-15, 17-18 poseen una mayor efectividad comparado con AAZ, porque incorporan grupos más voluminosos como Boc-aminobutilo, 1,1-difeniletilo, etc. ⁽²⁰⁾

La isoforma hCA IX está asociada a tumoración ⁽²⁸⁾ y a diferencia de las anteriores, los compuestos que se unen a esta son inefectivos, excepto ciertos xantatos con potencia media (6-8, 14) que incorporan restos N-alquilo, cicloalquilo y difeniletil. En cambio, los compuestos con mayor poder inhibitorio incorporan restos bencilo o 2-piridiletilo (13, 15 y 19), grupos sencillos en cuanto a la SAR. Para la isoforma restante, hCA XII, tiene cierta similitud con la anterior en cuanto al poder inhibitorio, siendo los compuestos más potentes los mismos que los de la isoforma previamente mencionada. ⁽²⁰⁾

Las isoformas citosólicas, que son hCA I y II son mejores inhibidores cuando incluyen en su molécula grupos Boc-aminoalquilo, adamantiletilo u otros sistemas de anillos policíclicos.

En cambio, las isoformas transmembrana, entre las que se incluyen hCA IX y XII, generan mayor potencia inhibitoria cuando se incluyen grupos bencilo o 2-piridiletilo.

Se realizó un test *in vivo* con los xantatos con mayor efectividad sobre la isoforma hCA II de la enzima (predominante en los cuerpos ciliares), por lo que se seleccionaron los compuestos 10, 11, 14, 15 y 17. La prueba fue efectuada sobre conejos normotensos, aplicando xantato al 2% directamente en el ojo y se obtuvo una disminución de la PIO entre 1-3,5 mmHg. En este modelo, la dorzolamida sería ineficaz como agente reductor de la PIO, ya que seguiría la misma curva vista para el compuesto utilizado como vehículo. ⁽²⁰⁾ [Ilustración 14 ⁽²⁰⁾]

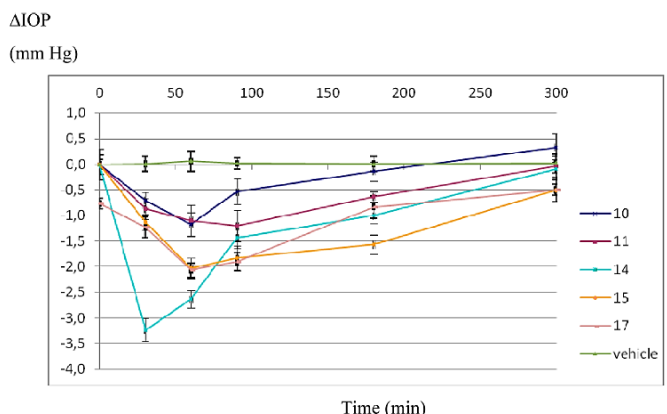


Ilustración 14. Resultados del test *in vivo* que se realizó conejos normotensos.

Se repite el test realizado anteriormente, con la utilización de los mismos compuestos, pero esta vez en conejos hipertensos ⁽²⁸⁾ ⁽²⁰⁾. La dorzolamida sí que es eficaz en este modelo, comenzando a verse su efecto una hora después y llegando a disminuir la PIO hasta 4 mmHg, aunque este efecto desapareció o fue despreciable a los 150 minutos tras su administración. En cambio, los xantatos disminuyen la PIO entre un 4-12 mmHg esto se

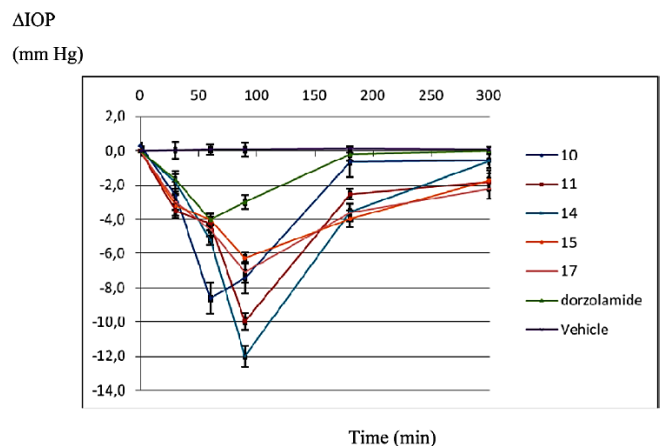


Ilustración 15. Resultados del test *in vivo* que se realizó conejos hipertensos.

traduce en 2-3 veces más efectividad que la dorzolamida, generando el pico máximo de disminución de PIO entre los 50-100 minutos. El efecto sigue siendo significativamente relevante a los 200-250 minutos tras su administración. [Ilustración 15 ⁽²⁰⁾]

De todos los xantatos utilizados para esta comparación a través del test *in vivo*, se ha llegado a la conclusión de que el mejor compuesto es el 14, puesto que posee el menor valor de K_i y su PIO disminuye un máximo de 12 mmHg, reduciéndose hasta 3 veces más que al administrar la misma concentración de dorzolamida.

V. CONCLUSIÓN

El glaucoma se caracteriza por ser una enfermedad degenerativa progresiva, que en un principio es asintomática, pero según evoluciona empieza a observarse una pérdida de visión gradual. Para frenar la evolución de dicha enfermedad, es importante realizar un diagnóstico temprano y, además, se procura incidir en los factores de riesgo asociados.

El tratamiento de esta neuropatía óptica se realiza mediante diversos fármacos que actúan reduciendo el humor acuoso como análogos colinérgicos, β -bloqueantes, análogos de prostaglandinas e inhibidores de anhidrasa carbónica. Centrándonos en estos últimos, las sulfonamidas tradicionales han quedado en un segundo plano debido a sus numerosos efectos secundarios, para dar paso a diversos avances en terapéutica que incluyen modificaciones en las moléculas, como los análogos de sulfonamida que contienen 2-bencilpiperazina en su estructura, permitiendo que estos compuestos posean una mayor potencia.

Igualmente, se establecen novedades en la terapia del glaucoma con la introducción de moléculas como xantatos y tritio carbonatos, que difieren mucho de la terapia glaucomatosa actual, a causa de su estructura en forma de aniones, aunque la forma en la que se unen a su sitio activo es similar a las sulfonamidas. Dichos compuestos inciden con mayor potencia en las isoformas hCA I, hCA II y en caso de los compuestos con bencilpiperazina, también sobre hCA IV.

Las moléculas que contienen bencilpiperazina se unen a las diferentes isoformas de la AC, aunque hay un par de moléculas, (R)-2 y (R)-11, que destacan sobre la intensidad de esta unión. Estas se utilizan para la realización de un test *in vivo*, donde provocan el doble de eficacia al compararlas con el compuesto de referencia.

En relación a los xantatos y tritio carbonatos, los compuestos con mayor potencia son los que contienen grupos voluminosos en su estructura e inciden sobre la isoforma hCA II. Esto se puede apreciar en el test *in vivo* con una reducción de la PIO de hasta 12 mmHg.

VI. BIBLIOGRAFÍA

1. Donegan RK, Lieberman RL. Discovery of Molecular Therapeutics for Glaucoma: Challenges, Successes, and Promising Directions. J Med Chem. 11 de febrero de 2016;59(3):788-809.

2. Zhang K, Zhang L, Weinreb RN. Ophthalmic drug discovery: novel targets and mechanisms for retinal diseases and glaucoma. *Nat Rev Drug Discov.* 15 de junio de 2012;11(7):541-59.
3. Yadav KS, Rajpurohit R, Sharma S. Glaucoma: Current treatment and impact of advanced drug delivery systems. *Life Sci.* 15 de marzo de 2019;221:362-76.
4. Flammer J, Mozaffarieh M. What is the present pathogenetic concept of glaucomatous optic neuropathy? *Surv Ophthalmol.* noviembre de 2007;52 Suppl 2:S162-173.
5. Healey PR, Thomas R. Fast Facts: Glaucoma - Definitions and epidemiology [Internet]. Abingdon, United Kingdom, Abingdon: Health Press Limited; 2010 [citado 15 de diciembre de 2019]. 12 p. Disponible en: <http://search.proquest.com/docview/1170767517/citation/21D605049E10440APQ/1>
6. Oftalmoseo: Home [Internet]. [citado 30 de diciembre de 2019]. Disponible en: <https://www.oftalmoseo.com/>
7. Weinreb RN, Aung T, Medeiros FA. The pathophysiology and treatment of glaucoma: a review. *JAMA.* 14 de mayo de 2014;311(18):1901-11.
8. Scozzafava A, Supuran CT. Glaucoma and the applications of carbonic anhydrase inhibitors. *Subcell Biochem.* 2014;75:349-59.
9. Flammer J, Orgül S, Costa VP, Orzalesi N, Kriegelstein GK, Serra LM, et al. The impact of ocular blood flow in glaucoma. *Prog Retin Eye Res.* julio de 2002;21(4):359-93.
10. Grieshaber MC, Flammer J. Blood flow in glaucoma. *Curr Opin Ophthalmol.* abril de 2005;16(2):79-83.
11. Flammer J, Konieczka K, Flammer AJ. The primary vascular dysregulation syndrome: implications for eye diseases. *EPMA J.* 7 de junio de 2013;4(1):14.
12. Mozaffarieh M, Flammer J. Is there more to glaucoma treatment than lowering IOP? *Surv Ophthalmol.* noviembre de 2007;52 Suppl 2:S174-179.
13. El glaucoma, segunda causa de ceguera a nivel mundial, afecta a casi 50.000 personas en Euskadi – ICQO [Internet]. [citado 15 de diciembre de 2019]. Disponible en: <https://www.icqo.org/el-glaucoma-segunda-causa-de-ceguera-a-nivel-mundial-afecta-a-casi-50-000-personas-en-euskadi/>
14. Cohen LP, Pasquale LR. Clinical characteristics and current treatment of glaucoma. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2 de junio de 2014;4(6).
15. Masini E, Carta F, Scozzafava A, Supuran CT. Antiglaucoma carbonic anhydrase inhibitors: a patent review. *Expert Opin Ther Pat.* 2013;23(6):705-16.
16. Lomelino C, McKenna R. Carbonic anhydrase inhibitors: a review on the progress of patent literature (2011-2016). *Expert Opin Ther Pat.* agosto de 2016;26(8):947-56.

17. P4_Anhidrasa_carbonica_30258.pdf [Internet]. [citado 16 de diciembre de 2019]. Disponible en: http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/P4_Anhidrasa_carbonica_30258.pdf
18. Supuran CT, Altamimi ASA, Carta F. Carbonic anhydrase inhibition and the management of glaucoma: a literature and patent review 2013-2019. *Expert Opin Ther Pat.* octubre de 2019;29(10):781-92.
19. Chiamonte N, Bua S, Ferraroni M, Nocentini A, Bonardi A, Bartolucci G, et al. 2-Benzylpiperazine: A new scaffold for potent human carbonic anhydrase inhibitors. Synthesis, enzyme inhibition, enantioselectivity, computational and crystallographic studies and in vivo activity for a new class of intraocular pressure lowering agents. *Eur J Med Chem.* 10 de mayo de 2018;151:363-75.
20. Xanthates and trithiocarbonates strongly inhibit carbonic anhydrases and show antiglaucoma effects in vivo. - PubMed - NCBI [Internet]. [citado 16 de diciembre de 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23647428>
21. spanish-glaucoma-treatments-final_0.pdf [Internet]. [citado 16 de diciembre de 2019]. Disponible en: https://www.brightfocus.org/sites/default/files/spanish-glaucoma-treatments-final_0.pdf
22. . :: CIMA :: Centro de información de medicamentos [Internet]. [citado 30 de diciembre de 2019]. Disponible en: <https://cima.aemps.es/cima/publico/home.html>
23. Supuran CT. Structure-based drug discovery of carbonic anhydrase inhibitors. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry.* 1 de diciembre de 2012;27(6):759-72.
24. Congiu C, Onnis V, Deplano A, Balboni G, Dedeoglu N, Supuran CT. Synthesis of sulfonamides incorporating piperazinyl-ureido moieties and their carbonic anhydrase I, II, IX and XII inhibitory activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters.* 15 de septiembre de 2015;25(18):3850-3.
25. Sławiński J, Szafranski K, Vullo D, Supuran CT. Carbonic anhydrase inhibitors. Synthesis of heterocyclic 4-substituted pyridine-3-sulfonamide derivatives and their inhibition of the human cytosolic isozymes I and II and transmembrane tumor-associated isozymes IX and XII. *European Journal of Medicinal Chemistry.* 1 de noviembre de 2013;69:701-10.
26. Innocenti A, Scozzafava A, Supuran CT. Carbonic anhydrase inhibitors. Inhibition of cytosolic isoforms I, II, III, VII and XIII with less investigated inorganic anions. *Bioorg Med Chem Lett.* 1 de abril de 2009;19(7):1855-7.
27. Innocenti A, Scozzafava A, Supuran CT. Carbonic anhydrase inhibitors. Inhibition of transmembrane isoforms IX, XII, and XIV with less investigated anions including trithiocarbonate and dithiocarbamate. *Bioorg Med Chem Lett.* 1 de marzo de 2010;20(5):1548-50.

28. Carta F, Aggarwal M, Maresca A, Scozzafava A, McKenna R, Masini E, et al. Dithiocarbamates strongly inhibit carbonic anhydrases and show antiglaucoma action in vivo. J Med Chem. 23 de febrero de 2012;55(4):1721-30.