



# SÍNTESIS ENZIMÁTICA DE HEPARINAS Y MECANISMO DE ACCIÓN

AINHOA GARRIDO PÉREZ. FACULTAD FARMACIA UCM 2019.

## INTRODUCCIÓN

Las heparinas son glicosaminoglicanos, constituidos por unidades repetidas de glucosamina mediante unión 1 $\beta$ 4, además contienen restos de ácido idurónico y glucurónico con sulfatación variable. Las heparinas son fármacos que se usan como anticoagulantes que actúan en la hemostasia secundaria, tanto en la vía intrínseca como extrínseca de la coagulación.

## MECANISMO DE ACCIÓN

- ✓ Unión de heparina a AT III  $\rightarrow$  Mayor reactividad con Xa, IXa y IIa  $\rightarrow$  Disminución de fibrina  $\rightarrow$  Efecto anticoagulante y antitrombótico. (1,2)
- ✓ Hay 2 regiones responsables de la actividad de la heparina, el pentasacárido (Figura 1) y la secuencia repetitiva de disacáridos trisulfatados (Figura 2).
- ✓ Para la reactividad AT III con Xa y IXa: unión del pentasacárido al centro de reconocimiento de la AT III. Para la reactividad de AT III con IIa: pentasacárido + secuencia de disacáridos trisulfatados + AT III (Figura 3). (1,2)

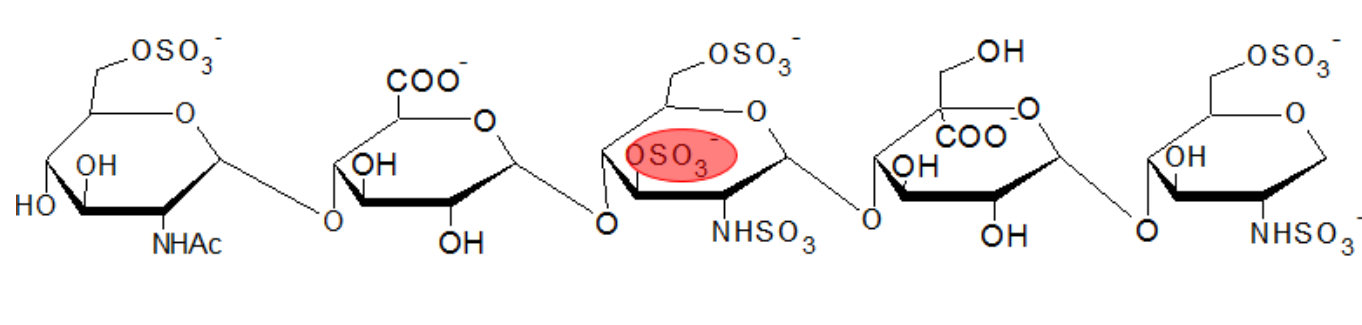


Figura 1. Pentasacárido de unión a AT III

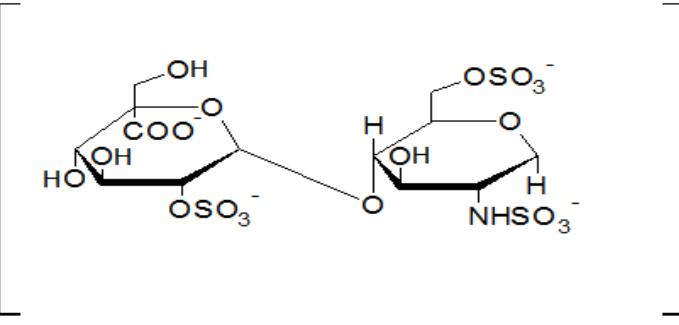


Figura 2. Disacárido trisulfatado

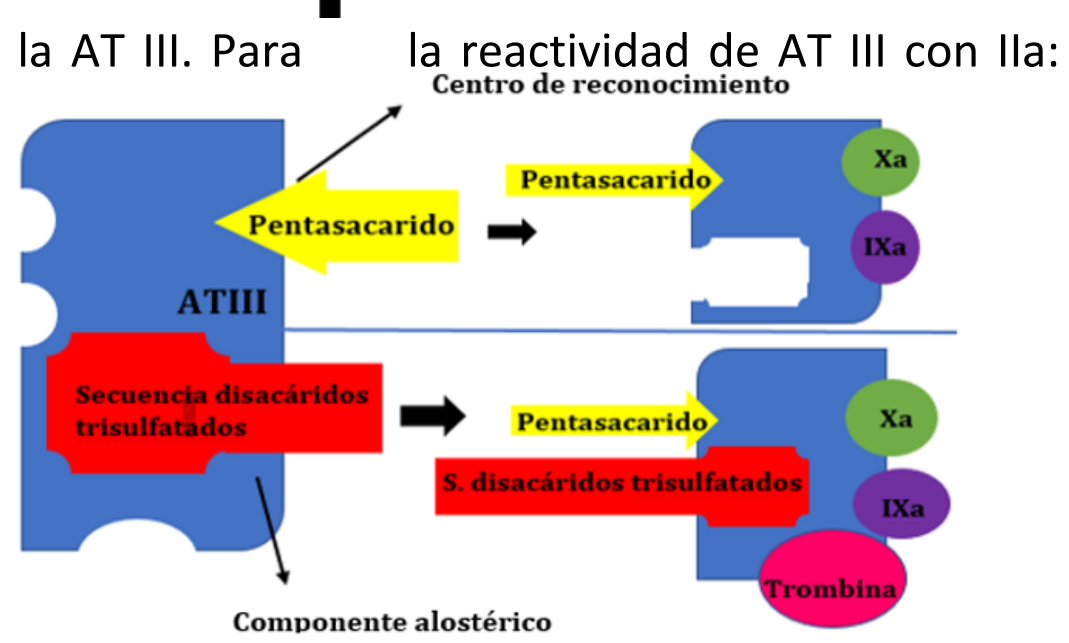


Figura 3. Interacciones AT III-Heparina

## OBJETIVOS

- ✓ Revisión bibliográfica sobre:
  - Actividad de las heparinas y usos
  - Mecanismo de acción y biocatálisis
  - Biosíntesis y síntesis actual
  - Estrategias de síntesis enzimática de HBPM y HUBPM

## METODOLOGÍA

- ✓ Búsqueda bibliográfica en:



- ✓ Búsqueda en página web:



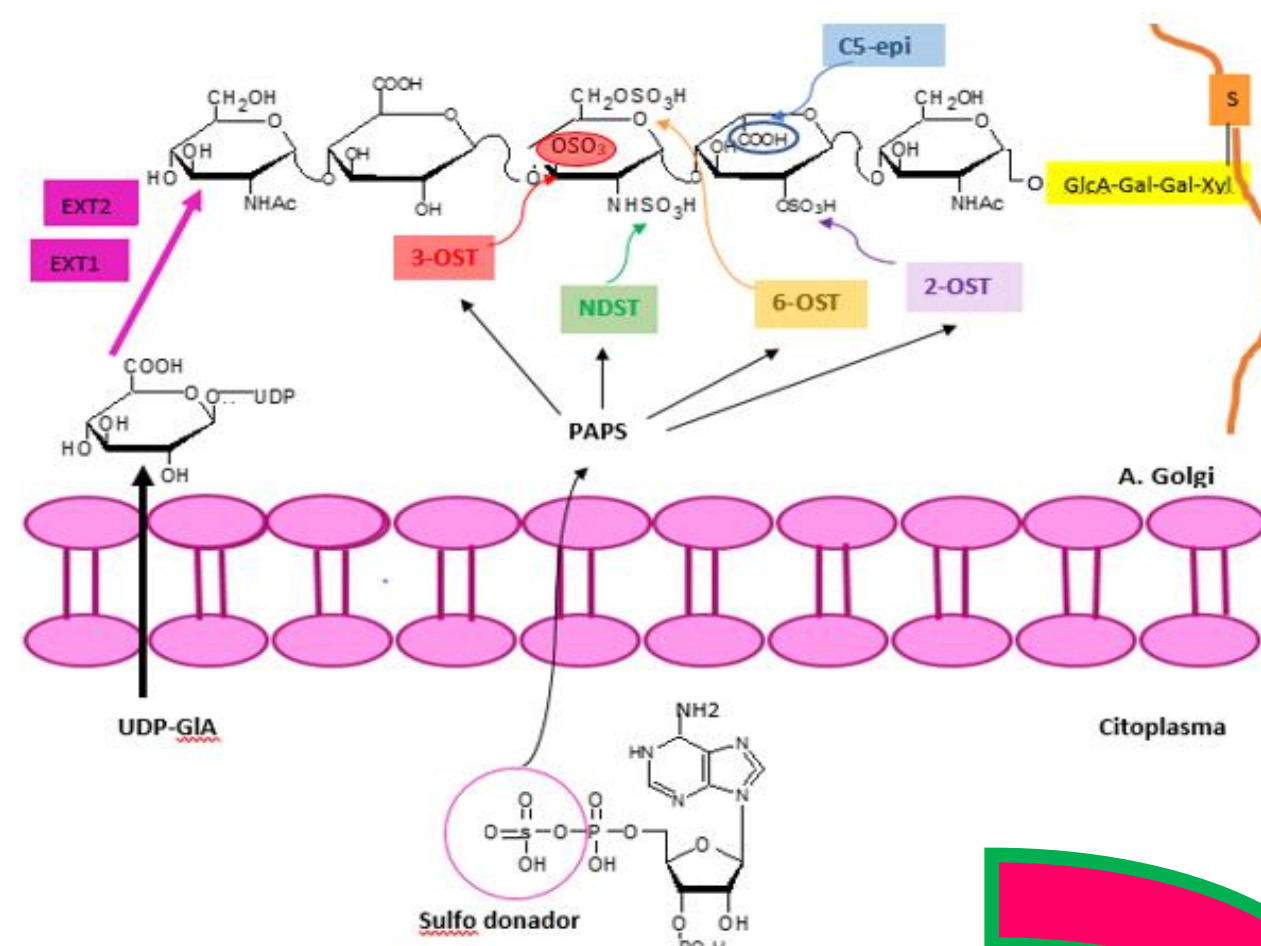
- ✓ Búsqueda en libros electrónicos

- ✓ Programa ChemSketch para realización de figuras

## DISCUSIÓN Y RESULTADOS

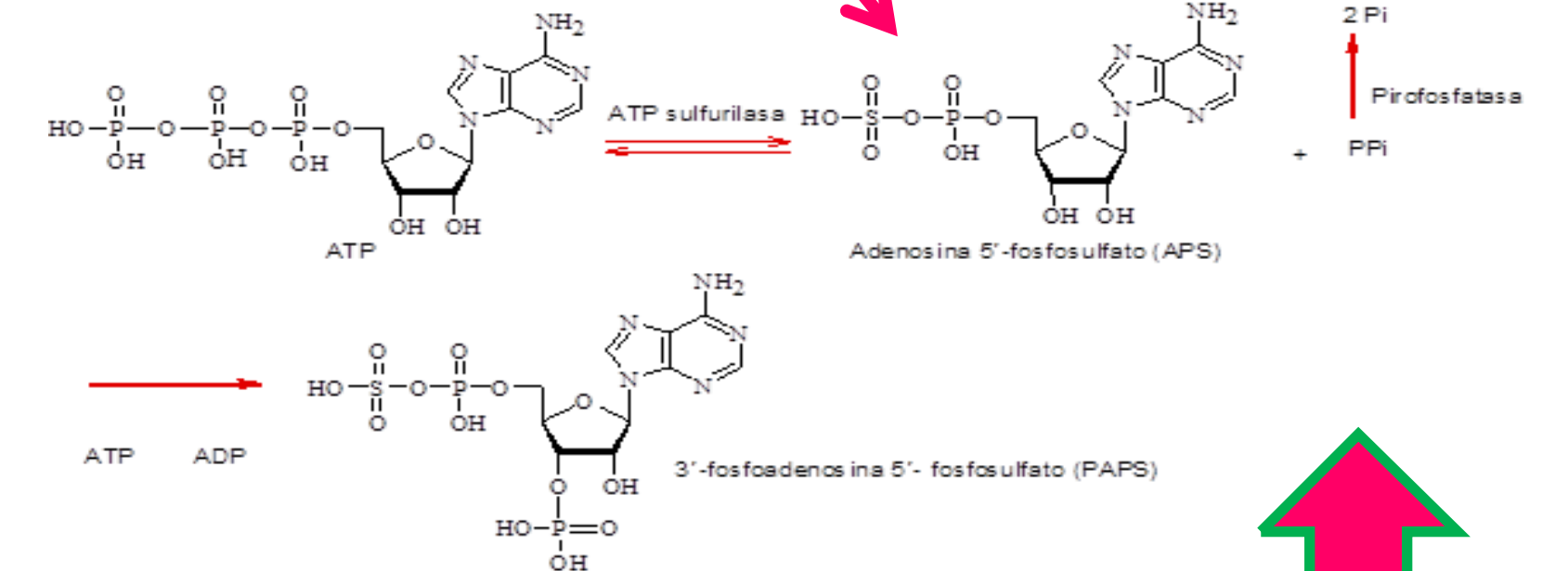
## BIO SíNTESIS DE HEPARINAS

- ✓ La síntesis se lleva a cabo en el aparato de Golgi y en el retículo endoplasmático de los mastocitos.
- ✓ Primero se sintetiza el esqueleto a partir de un tetrasacárido (GlcA-Gal-Gal-Xyl), este se va elongando mediante polimerasas (EXT1 Y EXT2), usando disacáridos activados con UDP (Figura 4). (3)
- ✓ Después se llevan a cabo distintas modificaciones (Figura 4). (3)



## 3 DONADOR SULFO PARA LAS N-SULFATACIONES

Los PAPS donarán su grupo sulfo en las distintas reacciones, para que puedan volver a utilizarse es necesario, que recuperen este grupo, para ello se ha empleado la enzima aril-sulfotransferasa-IV (AST-IV). Esta en presencia elevada de p-nitrofenil sulfato lo que hace es catalizar la transferencia de un grupo sulfato desde el p-nitrofenil sulfato (PNPS) hasta el PAP, obteniéndose de nuevo PAPS. El problema era el coste por ello se desarrolló otra estrategia (3):

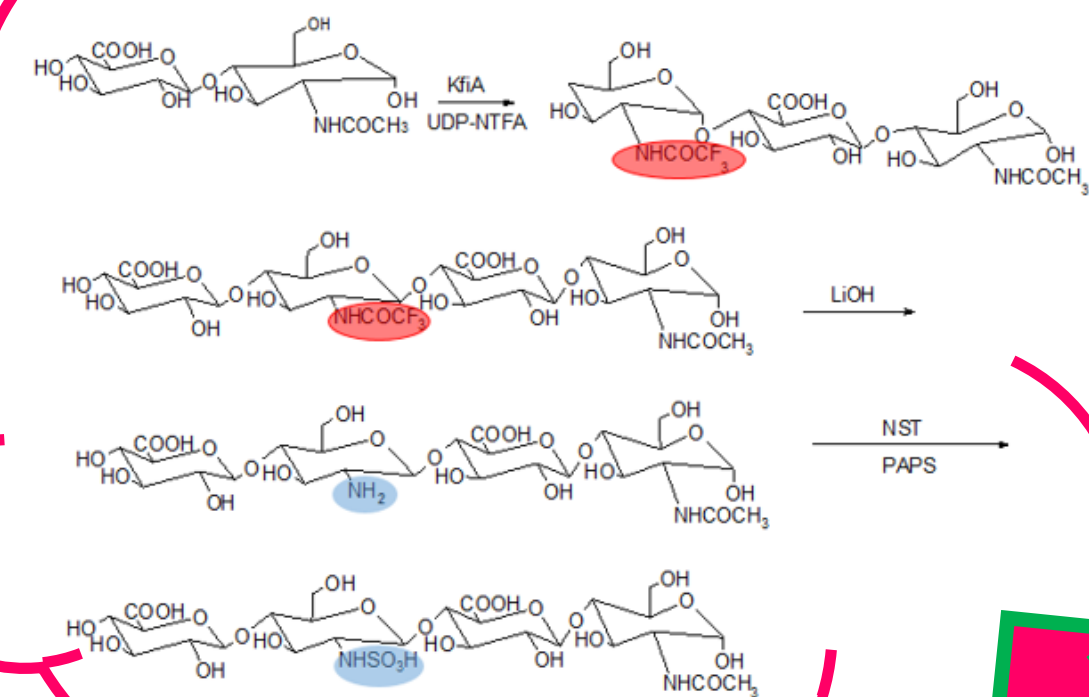


## ESTRATEGIAS QUIMIOENZIMÁTICAS PARA LA SÍNTESIS DE HBPM

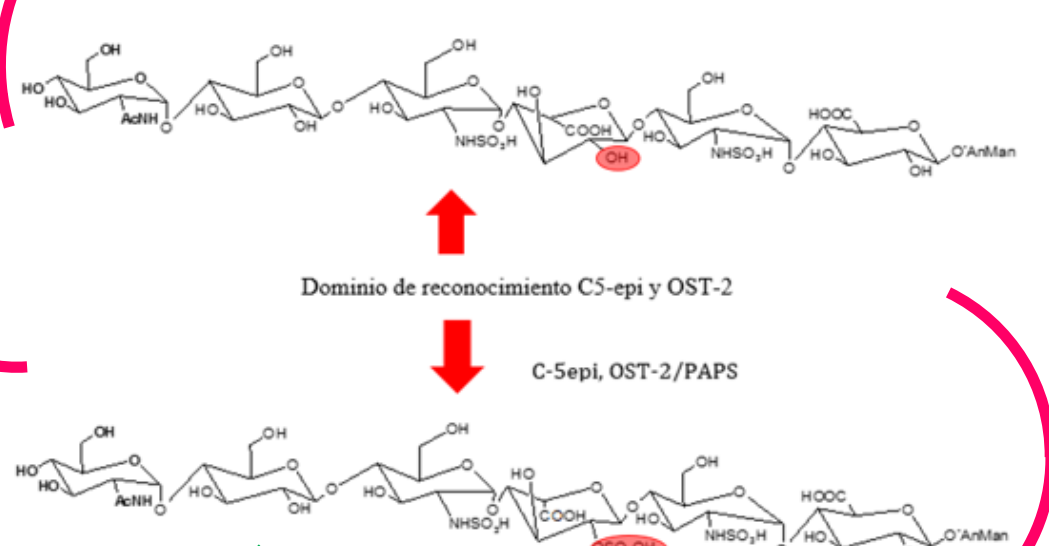
### 1 OBTENCIÓN DEL ESQUELETO DE HEPARINA

Los polisacáridos de partida se han obtenido del heparosán, este es el cebador necesario para que las enzimas puedan iniciar la síntesis. Las enzimas que actúan son la glicosiltransferasa bacteriana de la cepa *E. coli* K5 (Kfi) y la heparosán sintetasa 2 de *Pasteurella multocida* (pmHS2). (3,4)

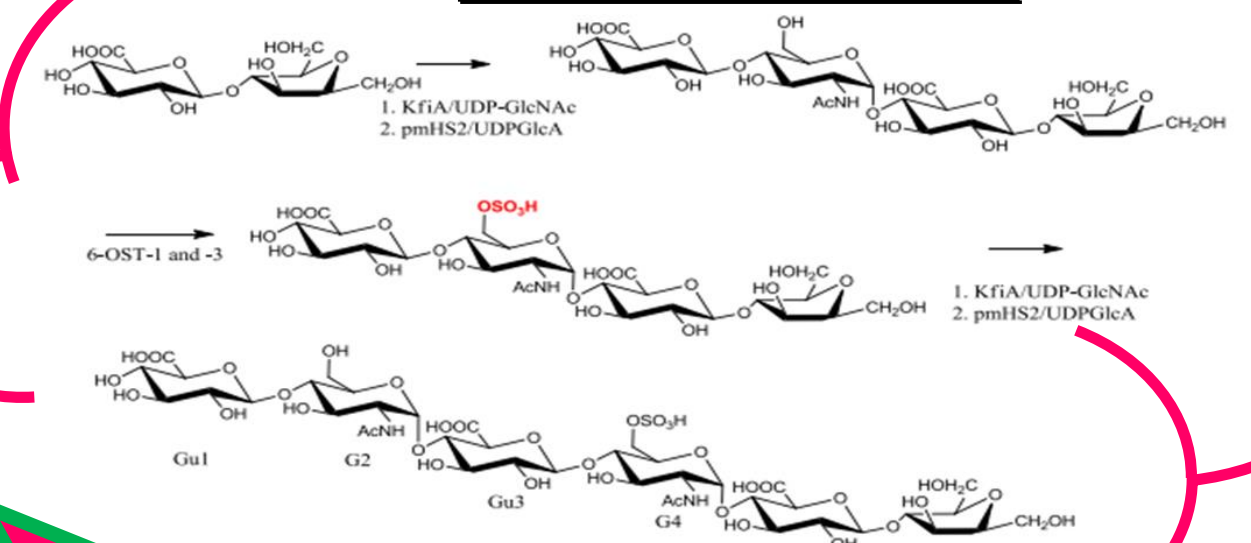
### MODIFICACIÓN NDST



### MODIFICACIÓN POR C5-EPI Y OST-2



### SULFATACIÓN POR 6-OST



### 2 MODIFICACIONES SOBRE EL ESQUELETO DE HEPARINA

### SULFATACIÓN POR 3-OST

## CONCLUSIONES

Las heparinas fueron descubiertas hace más de un siglo, desde entonces se han empleado en distintas situaciones clínicas como la trombosis venosa profunda, enfermedad tromboembólica profunda etc.

En su síntesis se han cometido errores, como la muerte de hasta 100 personas en EEUU en 2008. Esto y la ambición por mejorarlas ha llevado a desarrollar nuevas técnicas, como la síntesis quimioenzimática. Tal y como se ha visto en este trabajo son múltiples los avances realizados, pero todavía queda mucho para satisfacer la demanda anual de 100 toneladas y obtener la heparina ideal, pero estamos en el camino.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Laercio Pol-Fachin y Hugo Verli. Glicobiología estructural de la dinámica de la heparina en el exosito 2 de las proteasas en cascada de la coagulación: Implicaciones para la actividad antitrombótica de los glicosaminoglicanos. *Glycobiology*, Volumen 24, Número 1, enero de 2014, páginas 97–105.
2. Liu, H., Zhang, Z., y Linhardt, R.J. Lecciones aprendidas de la contaminación de la heparina. *Informes de productos naturales* (2009), 26 (3), 313–321.
3. Chandarajoti, K., Liu, J., y Pawlinski, R. Diseño y síntesis de nuevas heparinas sintéticas de bajo peso molecular. *Diario de trombosis y hemostasia* (2016): JTH, 14 (6), 1135-1145.
4. Xianxuan Zhou, Timothy R. O'Leary, Yongmei Xu, Juzheng Sheng y Jian Liu. Síntesis quimioenzimática de sulfato de heparán y heparina, Biocatálisis y biotransformación (2012), 30: 3, 296-308