

EXPLORACIÓN DE LA RIBONUCLEÓTIDO REDUCTASA: MECANISMO DE ACCIÓN Y POTENCIAL TERAPÉUTICO

Edgar J. González ^a, Marco A. García-Revilla ^a, Eduardo Peña-Cabrera ^a, Yolanda Alcaraz-Contreras ^{b*}, Miguel A. Vázquez ^{a*}

^a Departamento de Química, División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato, Noria Alta s/n, Guanajuato, Gto. mvazquez@ugto.mx

^b Departamento de Farmacia, División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato, Noria Alta s/n, Guanajuato, Gto. yolaalca@ugto.mx

Resumen

El reconocimiento de una diana terapéutica permite la elaboración de fármacos que interactúan específicamente con ella, lo que mejora la efectividad del tratamiento y disminuye los efectos adversos. Por ejemplo, en la terapia del cáncer, el análisis de dianas terapéuticas facilita la creación de "fármacos a la carta", es decir, tratamientos orientados a combatir las modificaciones genéticas o moleculares particulares del tumor. En esta revisión, se describen las funciones y la estructura tridimensional del ribonucleótido reductasa, una enzima clave en la síntesis de desoxirribonucleótidos, esenciales para la replicación y reparación del ácido desoxirribonucleico. Asimismo, se discute cómo diversas moléculas orgánicas pueden actuar como inhibidores de esta enzima, desempeñando un papel destacado en la investigación de tratamientos con potencial efecto anticancerígeno. Finalmente, se describen los distintos mecanismos de inhibición, ilustrados con ejemplos de moléculas representativas para cada caso.

Palabras clave: Ribonucleótido reductasa; Inhibición; Moléculas orgánicas, Quimioterapia; Cáncer.

RIBONUCLEOTIDE REDUCTASE TARGETING: MECHANISM OF ACTION AND THERAPEUTIC POTENTIAL

Abstract

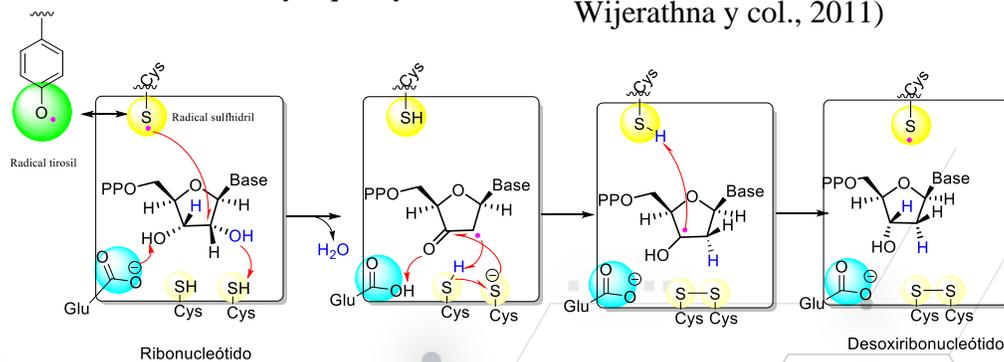
Recognizing a therapeutic target allows the development of drugs that interact with it, improving treatment effectiveness and reducing adverse effects. For example, in cancer therapy, the analysis of therapeutic targets facilitates the creation of "Personalized drug," that is, treatments specifically designed to combat the tumor's unique genetic or molecular modifications. This review describes the functions and three-dimensional structure of ribonucleotide reductase, a key enzyme in synthesizing deoxyribonucleotides, which are essential for replicating and repairing deoxyribonucleic acid. Additionally, it discusses how various organic molecules can act as inhibitors of ribonucleotide reductase, playing a prominent role in researching treatments with potential anticancer effects. The various inhibition mechanisms are detailed, accompanied by examples of representative molecules for each mechanism.

Keywords: Ribonucleotide reductase, Inhibition, Organic compounds, Chemotherapy, Cancer.

1. Introducción

Dentro del vasto y fascinante mundo del metabolismo celular, existen estructuras cuya actividad es esencial para los procesos bioquímicos que sustentan la vida. Un gran ejemplo de estas especies son las enzimas ribonucleótido reductasa (RNR) o también llamadas ribonucleósido difosfato reductasa. Estas enzimas catalizan la reducción del grupo hidroxilo en el carbono 3 (C3-OH) en los ribonucleótidos 5'-di o trifosfatos (NDP o NTP) para su transformación en los correspondientes desoxirribonucleótidos (Esquema 1). (Huff y col., 2022; Kolberg y col., 2004; Shetty y col., 2024; Torrents, 2014; Zhou y col., 2013; Zuo y col., 2024) Este proceso es crucial para la síntesis del ácido desoxirribonucleico (ADN), ya que los desoxirribonucleótidos son los bloques de construcción que se utilizan para formar el ADN. Sin la actividad del ribonucleótido reductasa, las células no podrían sintetizar el ADN de manera efectiva, ya que ayudan en

la regulación de la tasa total de síntesis de ADN, manteniendo constante la proporción entre ADN y masa celular durante la división y reparación del ADN. (Huff y col., 2022; Kolberg y col., 2004; Shetty y col., 2024; Torrents, 2014; Zhou y col., 2013; Zuo y col., 2024) Una característica del mecanismo de acción de esta enzima es catalizar la reacción de reducción mediante la generación de radicales libres [radical tirosil (Y^*) y sulfhídrico (S^*)], en el sitio activo de la enzima, por lo que, a la RNR se le cataloga como *enzima radical arquetípica* (Esquema 1). (Huff y col., 2022; Lebrette y col., n.d.; Shetty y col., 2024; Wijerathna y col., 2011). Estas enzimas también entran en la categoría de metaloenzimas, ya que, en su proceso de catálisis para la generación del radical S^* , usan en su sitio activo un catión metálico como cofactor ($Fe^{III}-Fe^{III}-Y^*$ para la clase Ia, $Mn^{III}-Mn^{III}-Y^*$ clase b, y $Fe^{III}-Mn^{III}-Y^*$ clase c). (Huff y col., 2022; Lebrette y col., n.d.; Shetty y col., 2024; Torrents, 2014; Wijerathna y col., 2011)



Esquema 1. Reducción de ribonucleótido catalizada por RNR.

2. Generalidades

2.1 Estructura de la RNR Clase I.

Se han descrito tres clases de RNR según sus cofactores (cuya nomenclatura usa números romanos para clasificarlas: I, II y III). Las enzimas de clase I contienen un grupo *dihierro-oxígeno* que genera un radical libre *tirosilo* (Y^*) y se encuentran en mamíferos, procariotas y en el virus del herpes. Esta clase de enzimas a su vez se divide en tres subclases Ia, Ib y Ic, siendo las enzimas de la subclase Ia comunes en la mayoría de todos los organismos y por lo tanto son el tema central de la presente revisión. (Cerqueira y col., 2005; Huff y col., 2022; Kolberg y col., 2004; Shetty y col., 2024; Torrents, 2014; Wijerathna y col., 2011; Zuo y col., 2024)

La RNR más estudiada es la de la bacteria *Escherichia coli* la cual es considerada el prototipo de las RNR presentes en los organismos superiores. En la Figura 1, se muestra la estructura de la enzima la cual está compuesta por las subunidades α (R1) y β (R2) que en presencia de ATP forman el complejo enzimático activo $\alpha_2\beta_2$. La subunidad α (que en los mamíferos se identifica como RRM1, ~85kDa), contiene el sitio catalítico (sitio-C) y dos sitios de regulación alostérica: el sitio activo (sitio-A) y el sitio específico (sitio S). El sitio A

controla la actividad general de la enzima de tal forma que la unión a ATP activa la RNR, mientras que la unión a dATP la inactiva. Por otro lado, el sitio S regula la preferencia de la enzima por un sustrato específico para su unión al sitio C. La subunidad β (que en los mamíferos se identifica como RRM2, ~45kDa), es más pequeña y contiene el cofactor metálico de hierro (Fig. 1). (Fontecave y col., 1992; Huff y col., 2022; Kolberg y col., 2004; Lebrette y col., n.d.; Rofougaran y col., 2008; Shetty y col., 2024; Torrents, 2014; Wijerathna y col., 2011; Zhou y col., 2013; Zuo y col., 2024)

En las tres clases de RNR, los radicales libres (Y^*) interactúan con un residuo de cisteína (Cys439) del sitio A para generar el radical S^* . Es importante destacar que el sitio A está altamente conservado, es decir es muy similar, en las tres variantes de RNR (Huff et al., 2022; Shetty y col., 2024; Torrents, 2014; Wijerathna y col., 2011; Zhou y col., 2013).

2.2 Inhibidores de RNR como tratamiento de cáncer.

La RNR es un objetivo atractivo tanto para la quimioterapia contra el cáncer como para la terapia antiviral debido a su papel fundamental en la regulación de ADN.

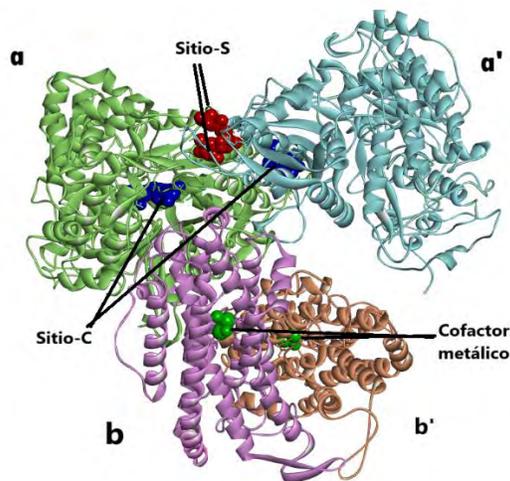


Figura 1. Estructura del ribonucleótido reductasa de *E. Coli* (PDB: 6W4X). Proteínas alfa (verde y aguamarina), junto con los sitios específicos (rojo) y catalíticos (azul rey). Proteínas beta (rosa y naranja) así como el sitio donde se dispone el cofactor metálico (verde).

Se sabe que las subunidades RRM1 o RRM2 están sobreexpresadas en una amplia variedad de cánceres, incluidos el cáncer gástrico, de ovario, colorrectal, de cerebro, de mama, de hígado y de pulmón. (Elford y col., n.d.; Huff y col., 2022; Shetty y col., 2024; Wijerathna y col., 2011) Por ello, se han desarrollado una gran cantidad de inhibidores de RNR con diferentes mecanismos, los cuales se pueden dividir en tres grupos principales: 1) inhibidores catalíticos que inactivan la subunidad RRM1 o la subunidad RRM2; 2) inhibidores de la traducción, que bloquean la síntesis de la enzima y; 3) inhibidores de la dimerización

que impiden la asociación de las dos subunidades RNR.

2.3 Inhibidores catalíticos.

Estos inhibidores interactúan con la forma activa de la RNR y se clasifican según el tipo de inactivación que ejercen sobre las subunidades. Se dividen en inhibidores específicos para la subunidad RRM1 e inhibidores específicos para la subunidad RRM2. (Cerqueira y col., 2005; Huff y col., 2022; Torrents, 2014; Wijerathna y col., 2011)

2.3.1. Inhibidores específicos para la subunidad RRM1.

Estos inhibidores se unen a los sitios de la subunidad RRM1 y pueden clasificarse en tres grupos:

a) *Inactivadores de grupos sulfhidriilo.*

Son pequeñas moléculas que como su nombre indica, se unen a los grupos sulfhidriilo (-SH) del sitio-A. Su representante más común es la caracemida (CAR o N-acetil N, O-di(metilcarbamoil)-hidroxilamina) (Fig. 2), la cual se ha observado que inhibe la subunidad RRM1, pero conduce al desarrollo de efectos neurológicos y psiquiátricos graves.

(Cerqueira y col., 2005; Huff y col., 2022; Wijerathna y col., 2011)

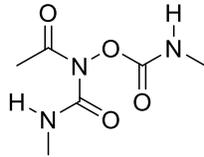


Figura 2. Estructura de la caracemida.

b) Inhibidores alostéricos.

Son moléculas que se unen a sitios distintos al sitio-A de una enzima, afectando su actividad catalítica al cambiar la conformación de la enzima, formando hexámeros inactivos. (Cerqueira y col., 2005; Huff y col., 2022; Wijerathna y col., 2011) Ejemplos de estos son: 8-azidoATP (Fig. 3a), y varios análogos de la desoxiadenosina, como la 2-cloro-2'-desoxiadenosina (Cladribina, Fig. 3b), la 9-β-D arabinofuranosil-2-fluoroadenina (Fludarabina, Fig. 3c), y la 2-cloro-2'-arabino-fluoro-2'-desoxiadenosina (Clofarabina, Fig. 3d). Fludarabina se ha utilizado en el tratamiento de leucemia linfocítica crónica, sin embargo, uno de los principales efectos adversos es la mielosupresión. (Lukenbill y col., 2013)

Por otro lado, varios estudios han evaluado la eficacia y seguridad de cladribina en el tratamiento de esclerosis múltiple encontrando que el efecto adverso más

común son las infecciones. (Giovannoni, 2017) Por último, la clofarabina se ha utilizado para tratar leucemias infantiles y los efectos adversos más frecuentemente reportados son anemia, diarrea y neutropenia febril. (Cerqueira y col., 2005; Huff y col., 2022; Jeha y col., 2023; Shetty y col., 2024; Wijerathna y col., 2011)

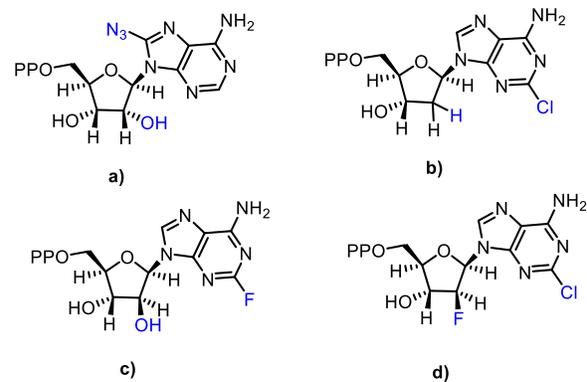


Figura 3. a) 8-azidoATP, b) Cladribina, c) Fludarabina y d) Clofarabina.

c) Análogos de sustrato.

Estos inhibidores se conocen normalmente como inhibidores suicidas porque son reconocidos por RNR como sustratos normales y reaccionan en el sitio activo dando lugar a productos anormales que inactivan la enzima. (Cerqueira y col., 2005; Shetty y col., 2024; Wijerathna y col., 2011) La diferencia entre el análogo y el sustrato original, generalmente se da en el grupo hidroxilo (C3'-OH) que se reduce durante la catálisis de RNR. Uno de los primeros

inhibidores que mostró propiedades interesantes fue la ara-C (Arabinosilcitosina) (Fig. 4a), un análogo de nucleótido con una arabinosa en lugar de una ribosa, sin embargo, la rápida degradación por desaminación y la ineficacia contra tumores sólidos lo hicieron inadecuado para uso médico. (Shetty y col., 2024; Wijerathna y col., 2011) El análogo más estudiado es la Gemcitabina (2'-desoxi-2',2'-difluorocitidina, Fig. 4b), el cual es un fármaco que es un componente importante de las quimioterapias estándar para tratar diversos tipos de cáncer, como el de pulmón y páncreas. Entre los efectos adversos más frecuentes destacan los hematológicos como neutropenia, anemia y trombocitopenia. (Schlack y col., 2016; Shetty y col., 2024; Wijerathna y col., 2011)

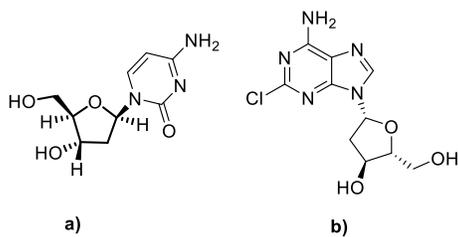


Figura 4. a) ara-C y b) Gemcitabina.

2.3.2 Inhibidores específicos para la subunidad RRM2.

Se ha encontrado que un posible desbalance en la expresión de la RRM2, en particular la

sobreexpresión, promueve la resistencia a medicamentos anticancerígenos, estando claramente ligada al crecimiento tumoral y la metástasis. Se ha demostrado que su inhibición puede superar la resistencia y aumentar la quimio-sensibilidad en el fibrosarcoma, cáncer de páncreas, entre otros. (Lebrette y col., n.d.; Panessoy col., 2023; Zhou y col., 2013; Zuo y col., 2024) Este tipo de inhibidores tienen dos mecanismos de acción principales:

a) *Depuradores de radicales.*

Son los que destruyen el radical libre de tirosilo que se asienta en el residuo de tirosina (Y122) y el centro de hierro, acompañado de la liberación de hierro de la proteína. (Elford y col., n.d.; Huff y col., 2022; Moianos y col., 2023; Zuo y col., 2024) Debido a que la subunidad RRM2 tiene una vida media corta, la efectividad de los inhibidores es limitada y solo son eficaces en tumores con tasas de crecimiento acelerado, ya que en estos casos disponen del tiempo suficiente para alcanzar su diana molecular. (Cerqueira y col., 2005; Wijerathna y col., 2011; Zuo y col., 2024) Los depuradores de radicales son generalmente moléculas pequeñas y planas, esto para que se les facilite su acercamiento al radical libre. (Wijerathna y col., 2011; Zuo y col., 2024) La hidroxiiurea (HU) (Fig 5a) es

el depurador de radicales mejor caracterizado y se ha utilizado para tratar diversas afecciones neoplásicas y no neoplásicas, sin embargo, tiene una eficacia clínica limitada debido a que su tiempo de vida media es corto y su afinidad a RRM2 humana es baja. (Bhave y col., 2013; Elford y col., n.d.; Huff y col., 2022; Panesso y col., 2023; Wijerathna y col., 2011; Zuo y col., 2024) En los últimos años se han desarrollado compuestos con estructuras similares a la hidroxiiurea, como el acetohidroxamato (Fig. 5b), los ácidos benzohidroxámicos sustituidos (Fig. 5c), la hidroxilamina (Fig. 5d), las hidroquinonas (Fig. 5e) y los derivados de la hidrazina (Fig. 5f), los cuales también han mostrado actividad inhibidora comparable. Entre los ácidos hidroxámicos, el Didox (ácido 3,4-dihidroxibenzohidroxámico) (Fig. 5g), destaca como uno de los inhibidores farmacológicos más potentes de la RNR. (Bhave y col., 2013; Cerqueira y col., 2005; Elford y col., n.d.; Huff y col., 2022; Mészáros y col., 2023; Moianos y col., 2023; Panesso y col., 2023; Wijerathna y col., 2011; Zuo y col., 2024)

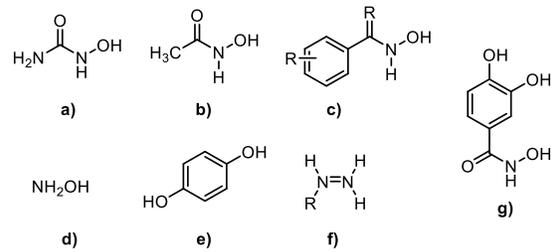


Figura 5. a) hidroxiiurea, b) acetohidroxamato, c) ácidos benzohidroxámicos, d) hidroxilamina, e) hidroquinonas, f) hidrazina y g) Didox.

También se ha encontrado que el óxido nítrico (NO) una molécula clave en el organismo involucrada en la vasodilatación, neurotransmisión e inmunomodulación, es un depurador de radicales ya que inactiva el radical *tirosilo* a través de la formación de aductos de nitrosotirosina. Algunos trabajos resaltan el papel del óxido nítrico en la inhibición de la RNR ya que mediante estrés nitrosativo modifica los tioles de la subunidad alfa por S-nitrosilación y en la subunidad beta modifica a los radicales tirosilo mediante nitrosación. Hasta la fecha el uso que tiene el óxido nítrico es por su efecto vasodilatador en enfermedades respiratorias y cardiovasculares. (Cerqueira y col., 2005; Chakraborty y col., 2022; Wijerathna y col., 2011; Yu y col., 2019)

b) Quelantes del hierro.

Dado que la subunidad RRM2 es dependiente de hierro, la eliminación o

quelación de este metal puede inhibir su actividad, por lo tanto, los quelantes de hierro se han convertido en un grupo de inhibidores de alta potencia. (Mészáros y col., 2023; Moianos y col., 2023; Zuo y col., 2024) Sin embargo, la principal limitación radica en su baja permeabilidad celular y su alta hidrofiliidad, atribuida a la presencia de grupos quelantes de metales compuestos por átomos de oxígeno o nitrógeno. (Huff y col., 2022; Moianos y col., 2023; Zuo y col., 2024) Se ha demostrado que los ácidos benzohidroxámicos, como el Didox (Fig. 5g), afectan también la homeostasis del hierro en células cancerosas. Otras variantes de compuestos que se han encontrado son Vorinostat (SAHA) (Fig. 6a), Belinostat (Fig. 6b) y Panobinostat (Fig 6c) (Mészáros et al., 2023).

Existen otros quelantes de hierro como DFX (desferrioxamina, mesilato de deferoxamina) (Fig.7a), HBED (ácido N, N,O-bis(o-hidroxibencil) etilendiamina-N,N,O-diacético) (Fig. 7b), BPYTA (2,2,0-bipiridil-6-carbotioamida) (Fig. 7c) y tiosemicarbazonas como las Triapina (3-aminopiridina-2-carboxaldehído tiosemicarbazona) (Fig. 7d) que también se pueden utilizar como inhibidores de RRM2

ya que han mostrado actividad en una amplia variedad de líneas celulares cancerosas.

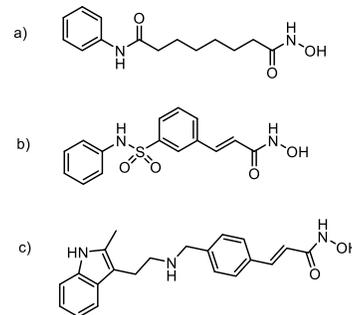


Figura 6. a) SAHA, b) Belinostat y; c) Panobinostat.

La inhibición que producen es consecuencia del efecto quelante del cofactor metálico impidiendo su incorporación o eliminándolo del centro activo de la enzima. (Moianos y col., 2023; Wijerathna y col., 2011; Zuo y col., 2024)

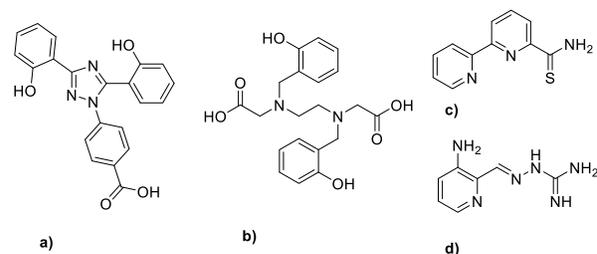


Figura 7. a) DFX, b) HBED, c) BPYTA y d) Triapina.

Además, existen agentes como el malonato de galio (Fig. 8) o el nitrato de galio que inhiben la incorporación celular de hierro, los cuales también pueden disminuir la actividad de RRM2. (Cerqueira y col., 2005;

Hashemy y col., 2006; Wijerathna y col., 2011)

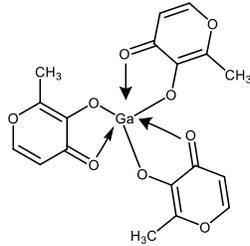


Figura 8. Malonato de Galio.

2.3.3 Inhibidores de traducción.

Esta clase de inhibidores se caracteriza por la unión de oligonucleótidos anti-sentido (ASO) a la cadena de ARNm de RRM1 o RRM2. Son generalmente secuencias complementarias de regiones específicas de una determinada cadena de ARNm o incluso de la secuencia codificante completa. (Cerqueira y col., 2005; Huff y col., 2022; Torrents, 2014; Wijerathna y col., 2011) Cuando los ASO se unen exitosamente al ARNm, bloquean su traducción o inducen su degradación mediante la activación de ARNasa. Entre los compuestos más prometedores de esta clase se encuentran el oligonucleótido GTI-2040 con una secuencia 5'-3'GGCTAAATCGCTCCACCAAG, y el GTI-2501, con la secuencia 5'-3'CTCTAGCGTCTTAAAGCCGA, ambos sometidos a ensayos clínicos donde han mostrado la inhibición de una amplia gama

de tumores. Este tipo de inhibidores presentan ventajas como el ser específicos para el ARNm y, por ende, presentan baja toxicidad y pocos efectos secundarios. Sin embargo, tienen una capacidad de transporte limitada a través de las membranas celulares y que, en algunos casos, son retenidos en vesículas dentro de la célula lo que inhabilita su acción. (Cerqueira y col., 2005; Huff y col., 2022; Wijerathna y col., 2011)(Wei y col., 2006)(Lee y col., 2006)

2.3.4 Inhibición dimerización

Este tipo de inhibidores de la actividad del virus del herpes simple, compite con la subunidad RRM2 lo que impide la formación de un RNR activo. (Cohen et al., 1987) Estos inhibidores son oligopéptidos con secuencias similares al extremo C-terminal flexible de RRM2, que es el responsable de la interacción con RRM1. (Cooperman, 2003) Como resultado, RRM1 no forma un complejo enzimáticamente activo. (Cerqueira y col., 2005; Huff y col., 2022; Torrents, 2014; Wijerathna y col., 2011; Zhou y col., 2013) Hay varios ejemplos de moléculas estudiadas con este mecanismo (Fig. 9) como ejemplo el oligómero de 7 aminoácidos (GAVVNDL), (Filatov et al., 1992) BILD 1263 (Brandt y col., 1996) y también el COH29. (Bothou y

- 40(5), 1078–1084. <https://doi.org/10.1128/AAC.40.5.1078>
- Cerqueira, N. M. F. S. A., Pereira, S., Fernandes, P. A., y Ramos, M. J. (2005). Overview of Ribonucleotide Reductase Inhibitors: An Appealing Target in Anti-Tumour Therapy. *Current Medicinal Chemistry*, 12(11), 1283-1294.
- Chakraborty, S., Mukherjee, P., y Sengupta, R. (2022). Ribonucleotide reductase: Implications of thiol S-nitrosylation and tyrosine nitration for different subunits. *Nitric Oxide*, 127, 26–43. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2022.07.002>
- Cohen, E. A., Paradis, H., Gaudreau, P., Brazeau, P., y Langelier, Y. (1987). Identification of viral polypeptides involved in pseudorabies virus ribonucleotide reductase activity. *Journal of Virology*, 61(6), 2046–2049. <https://doi.org/10.1128/jvi.61.6.2046-2049.1987>
- Cooperman, B. S. (2003). Oligopeptide inhibition of class I ribonucleotide reductases. *Peptide Science*, 71(2), 117–131. <https://doi.org/10.1002/bip.10397>
- Elford, H. L., Wampler, G. L., y Van't Riet, B. (n.d.). *New Ribonucleotide Reductase Inhibitors with Antineoplastic Activity I*. Retrieved from <http://aacrjournals.org/cancerres/article-pdf/39/3/844/2403708/cr0390030844.pdf>
- Filatov, D., Ingemarson, R., Gräslund, A., y Thelander, L. (1992). The role of herpes simplex virus ribonucleotide reductase small subunit carboxyl terminus in subunit interaction and formation of iron-tyrosyl center structure. *The Journal of Biological Chemistry*, 267(22), 15816–15822.
- Fontecave, M., Nordlund, P., Eklund, H., y Reichard, P. (1992). The Redox Centers of Ribonucleotide Reductase of Escherichia coli. In *Advances in Enzymology and Related Areas of Molecular Biology* (pp. 147–183). <https://doi.org/10.1002/9780470123119.ch4>
- Giovannoni, G. (2017). Cladribine to Treat Relapsing Forms of Multiple Sclerosis. *Neurotherapeutics*, 14(4), 874–887. <https://doi.org/10.1007/s13311-017-0573-4>
- Hashemy, S. I., Ungerstedt, J. S., Zahedi Avval, F., y Holmgren, A. (2006). Motexafin gadolinium, a tumor-selective drug targeting thioredoxin reductase and ribonucleotide reductase. *Journal of Biological Chemistry*, 281(16), 10691–10697. <https://doi.org/10.1074/jbc.M511373200>

- Huff, S. E., Winter, J. M., y Dealwis, C. G. (2022). Inhibitors of the Cancer Target Ribonucleotide Reductase, Past and Present. *Biomolecules*, 12(6). <https://doi.org/10.3390/biom12060815>
- Jeha, S., Goto, H., Baruchel, A., Boëlle-Le Corfec, E., Geffriaud-Ricouard, C., Pieters, R., y Shin, H. Y. (2023). Patient-Level Meta-analysis of Clofarabine in Acute Lymphoblastic Leukemia. *Advances in Therapy*, 40(12), 5447–5463. <https://doi.org/10.1007/s12325-023-02696-7>
- Kolberg, M., Strand, K. R., Graff, P., y Kristoffer Andersson, K. (2004). Structure, function, and mechanism of ribonucleotide reductases. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*, 1699(1–2), 1–34. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2004.02.007>
- Lebrette, H., Srinivas, V., John, J., Aurelius, O., Kumar, R., Lundin, D., Brewster, A. S., Bhowmick, A., Sirohiwal, A., Kim, I.-S., Gul, S., Pham, C., Sutherlin, K. D., Simon, P., Butryn, A., Aller, P., Orville, A. M., Fuller, F. D., Alonso-Mori, R., ... Högbom, M. (n.d.). *Structure of a ribonucleotide reductase R2 protein radical*. Retrieved from <https://www.science.org>
- Lee, Y., Vassilakos, A., Feng, N., Jin, H., Wang, M., Xiong, K., Wright, J., y Young, A. (2006). GTI-2501, an antisense agent targeting R1, the large subunit of human ribonucleotide reductase, shows potent anti-tumor activity against a variety of tumors. *International Journal of Oncology*, 28(2), 469–478.
- Lukenbill, J., y Kalaycio, M. (2013). Fludarabine: A review of the clear benefits and potential harms. *Leukemia Research*, 37(9), 986–994. <https://doi.org/10.1016/j.leukres.2013.05.004>
- Mészáros, J. P., Kovács, H., Spengler, G., Kovács, F., Frank, É., y Enyedy, É. A. (2023). A comparative study on the metal complexes of an anticancer estradiol-hydroxamate conjugate and salicylhydroxamic acid. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 244. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2023.112223>
- Moianos, D., Prifti, G. M., Makri, M., & Zoidis, G. (2023). Targeting Metalloenzymes: The “Achilles’ Heel” of Viruses and Parasites. In *Pharmaceuticals*

(Vol. 16, Issue 6). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI).
<https://doi.org/10.3390/ph16060901>

Panesso, M. P., Cancela, M., Corá, R. K., Paes, J. A., Paludo, G. P., & Ferreira, H. B. (2023). Ribonucleotide reductase as a therapeutic target for drug repurposing as anthelmintics. *Experimental Parasitology*, 255.

<https://doi.org/10.1016/j.exppara.2023.1086413e4>

Rofougaran, R., Crona, M., Vodnala, M., Sjöberg, B.-M., y Hofer, A. (2008). Oligomerization Status Directs Overall Activity Regulation of the Escherichia coli Class Ia Ribonucleotide Reductase. *Journal of Biological Chemistry*, 283(51), 35310–35318.

<https://doi.org/10.1074/jbc.M806738200>

Schlack, K., Martin, B., Julie, S., Andres Jan, S., y and Krabbe, L.-M. (2016). The safety and efficacy of gemcitabine for the treatment of bladder cancer. *Expert Review of Anticancer Therapy*, 16(3), 255–271.

<https://doi.org/10.1586/14737140.2016.1143777>

Shetty, M. G., Pai, P., Padavu, M., Satyamoorthy, K., y Kampa Sundara, B. (2024). Synergistic therapeutics: Co-

targeting histone deacetylases and ribonucleotide reductase for enhanced cancer treatment. In *European Journal of Medicinal Chemistry*, 269. Elsevier Masson s.r.l.

<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2024.116324>

Torrents, E. (2014). Ribonucleotide reductases: Essential enzymes for bacterial life. In *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* (Vol. 4, Issue APR). *Frontiers Media* S.A.

<https://doi.org/10.3389/fcimb.2014.00052>

Wei, X., Dai, G., Liu, Z., Cheng, H., Xie, Z., Marcucci, G., y Chan, K. K. (2006). Metabolism of GTI-2040, a phosphorothioate oligonucleotide antisense, using ion-pair reversed phase high performance liquid chromatography (HPLC) coupled with electrospray ion-trap mass spectrometry. *The AAPS Journal*, 8(4), 84.

<https://doi.org/10.1208/aapsj080484>

Wijerathna, S. R., Ahmad, F. M., Xu, H., Fairman, J. W., Zhang, A., Kaushal, P. S., Wan, Q., Kiser, J., y Dealwis, C. G. (2011). Targeting the large subunit of human ribonucleotide reductase for cancer chemotherapy. In *Pharmaceuticals* (Vol. 4,

Issue 10, pp. 1328–1354). MDPI AG
<https://doi.org/10.3390/ph4101328>

Yu, B., Ichinose, F., Bloch, D. B., y Zapol, W. M. (2019). Inhaled nitric oxide. *British Journal of Pharmacology*, 176(2), 246–255.
<https://doi.org/10.1111/bph.14512>

Zhou, B., Su, L., Hu, S., Hu, W., Yip, M. L. R., Wu, J., Gaur, S., Smith, D. L., Yuan, Y. C., Synold, T. W., Horne, D., y Yen, Y. (2013). A small-molecule blocking ribonucleotide reductase holoenzyme formation inhibits cancer cell growth and overcomes drug resistance. *Cancer Research*, 73(21), 6484–6493.
<https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-13-1094>

Zuo, Z., Zhou, Z., Chang, Y., Liu, Y., Shen, Y., Li, Q., y Zhang, L. (2024). Ribonucleotide reductase M2 (RRM2): Regulation, function and targeting strategy in human cancer. In *Genes and Diseases* (Vol. 11, Issue 1, pp. 218–233). KeAi Communications Co.
<https://doi.org/10.1016/j.gendis.2022.11.022>