Facultad de Ciencias – Sección de Química

Máster en Química

Universidad de La Laguna

Trabajo Fin de Máster

Desarrollo de Agentes Terapéuticos Selectivos Bioinspirados

Development of Selective Bioinspired Therapeutic Agents

Javier Contreras Gómez

Tutores:

Pedro Francisco Martín Zarza

Ilaria Gamba

Departamento de Química Inorgánica

Curso 2019-2020

TFM

1 ABSTRACT **1**

2 INTRODUCCIÓN **2**

2.1 MODOS DE UNIÓN DE FÁRMACO-ADN 4
2.1.1 Unión Covalente *5*
2.1.2 Unión no covalente *6*
2.1.3 Interacciones electrostáticas *7*
2.2 MECANISMOS DE RESISTENCIA A LOS METALOFÁRMACOS 7
2.2.1 Mecanismos que promueven la no acumulación por transporte intra- y extra-celular *8*
2.2.2 Mecanismos de detoxificación *9*
2.2.3 Mecanismos de reparación que incrementan la tolerancia celular al ADN dañado *10*
2.2.4 Disminución de la respuesta apoptótica y activación de vías de supervivencia *11*

3 REVISIÓN DE LAS PROPIEDADES ANTICANCERÍGENAS DEL Pt, Ru, Au Y Cu **12**

3.1 PLATINO 12
3.1.1 Cisplatino *12*
3.1.2 Carboplatino *14*
3.1.3 Oxaliplatino *15*
3.1.4 Picoplatino *16*
3.1.5 Satraplatino *17*
3.1.6 Complejos de platino asociados con ligandos afines a determinados transportadores *19*
3.1.7 Compuestos de platino que explotan el efecto EPR *21*
3.1.7.1 Complejos de platino con ligandos poliméricos 21
3.1.7.2 Complejos de platino asociados a nanotubos de carbono 22
3.1.7.3 Complejos de platino asociados a nanopartículas de oro 24
3.1.7.4 Complejos de platino asociados a nanorods de oro 25
3.1.7.5 Complejos de platino fotoactivables 26
3.1.8 Complejos de platino para combatir el cáncer de hueso *26*
3.2 RUTENIO 28
3.2.1 Estructura, síntesis y propiedades de los agentes antitumorales de rutenio *30*
3.2.2 NAMI-A y KP1019 ..... *31*
3.2.2.1 Síntesis y propiedades biológicas de NAMI-A 32
3.2.2.2 Ensayos clínicos con NAMI-A 33
3.2.2.3 Interacción de NAMI-A con posibles blancos biológicos 33
3.2.2.4 Síntesis y propiedades biológicas de KP1019 33
3.2.2.5 Ensayos clínicos con KP1019 34
3.2.2.6 Interacción de KP1019 con posibles blancos biológicos 35
3.2.3 Complejos de rutenio (II) (η^6-areno) *37*
3.2.3.1 Complejos tipo RAPTA 37
3.2.3.2 Complejos de coordinación Ru (II) de tipo medio sándwich 38
3.2.3.3 Complejos heteronucleares de rutenio 39
3.2.4 Compuestos de Ru(II) como inhibidores de proteína quinasa *40*
3.3 ORO 41
3.3.1 Complejos de oro (I) anticancerígenos *42*
3.3.1.1 Complejos de Fosfano de oro(I) 43
3.3.1.2 Complejos organometálicos de oro(I) 44
3.3.2 Complejos de oro (III) anticancerígenos *46*
3.3.2.1 Complejos de oro (III) con ligandos bidentados 46
3.3.2.2 Complejos de oro (III) con ligandos tridentados 48
3.3.2.3 Complejos de oro (III) con ligandos tetradentados 49
3.3.3 Interacciones con blancos biológicos *49*
3.3.3.1 Tioredoxina reductasas 50
3.4 COBRE 52
3.4.1 Tetratioomolibdato *56*
3.4.2 Clioquinol *57*
3.4.3 Disulfiram *59*
3.4.4 Elesclomol *60*
3.4.5 Complejos tipo Cu^{II}(gtsm) y Cu^{II}(atsm) *61*
3.4.6 Dp44mT *62*

3.4.7 DpC *64*

4 CONCLUSIONES **65**

5 REFERENCIAS/BIBLIOGRAFÍA **66**

6 AGRADECIMIENTOS **73**

1 Abstract

En el pasado, los compuestos a base de metales se usaban ampliamente en el tratamiento de enfermedades, pero la falta de una distinción clara entre las dosis terapéuticas y tóxicas era un desafío importante. Con el descubrimiento del cisplatino por Barnett Rosenberg en 1960, se presenció un hito en la historia de los compuestos a base de metales utilizados en el tratamiento de cánceres. Esto forma la base de la era moderna de los medicamentos contra el cáncer a base de metales. Los fármacos de platino, como cisplatino, carboplatino y oxaliplatino, son el pilar de los compuestos a base de metales en el tratamiento del cáncer. De acuerdo con esto, se han sintetizado muchos más compuestos a base de metales rediseñando la estructura química existente mediante la sustitución de ligandos. En esta revisión, se ha realizado una descripción general de los principales compuestos a base de metales de platino, rutenio, de oro y cobre.

In the past, metal-based compounds were widely used in the treatment of diseases, but the lack of a clear distinction between therapeutic and toxic doses was a major challenge. With the discovery of cisplatin by Barnett Rosen-berg in 1960, a milestone was witnessed in the history of metal-based compounds used in the treatment of cancers. This forms the basis of the modern era of metal-based cancer drugs. Platinum drugs, such as cisplatin, carboplatin, and oxaliplatin, are the mainstay of metal-based compounds in the treatment of cancer. Accordingly, many more metal-based compounds have been synthesized by redesigning the existing chemical structure by replacing ligands. In this review, an overview of the main compounds based on platinum, ruthenium, gold and copper metals has been made.

2 Introducción

«Cáncer» es un término genérico que designa un amplio grupo de enfermedades que pueden afectar a cualquier parte del organismo. Una característica definitoria del cáncer es la multiplicación rápida de células anormales que se extienden más allá de sus límites habituales y pueden invadir partes adyacentes del cuerpo o propagarse a otros órganos, un proceso que se denomina «metástasis». Las metástasis son la principal causa de muerte por cáncer. El cáncer es la segunda causa de muerte en el mundo; en 2015, ocasionó 8,8 millones de fallecimientos. Prácticamente una de cada seis defunciones en el mundo se debe a esta enfermedad [1].

La relación entre los metales y el cáncer es un campo clave en medicina y biología. Por un lado, los metales han sido identificados como cancerígenos, demostrándose claramente efectos cancerígenos para el níquel, el cromo, el arsénico, el cadmio y el berilio. Por otro lado, las propiedades anticancerígenas de los metales han sido bien descritas [2]. El descubrimiento de Rosenberg fue sin duda el más destacado ya que condujo a la utilización del primer complejo de metal comercializado y suministrado contra el cáncer [3], y todavía el *cisplatino*, es uno de los fármacos metaloterapéuticos más utilizados en oncología.

Un resumen de los complejos metálicos con propiedades anticancerígenas se muestra en la ***Tabla 1***. Existe una clara disparidad entre los diferentes metales que han sido citados en diferentes publicaciones científicas desde el descubrimiento del *cisplatino*. El platino sigue siendo, con mucho, el metal más estudiado seguido por Ru y Cu y, con gran diferencia, por Pd, Au, Fe, Zn, Co, Ni, Ag, Rh, Ir y Os.

Tabla 1. Resumen de las publicaciones de cada metal junto a sus estados de oxidación[3]

Metal (símbolo)	Estados de oxidación	N.º de publicaciones
Escandio	+3	26
Titanio (Ti)	(+2 +3) +4	150
Vanadio (V)	+2 +3 **+4 +5**	110
Cromo (Cr)	(+2) +3 +6	17
Manganeso (Mn)	+2 +3 +4 +6 (+7)	150
Hierro (Fe)	+2 +3	460

Cobalto (Co)	+2 +3	390
Níquel (Ni)	+2 (+3)	330
Cobre (Cu)	+1 +2	1400
Zinc (Zn)	+2	520
Molibdeno (Mo)	**+2** (+3) +4 +6	94
Rutenio (Ru)	**+2** +3 +4 (+7 +8)	1400
Rodio	+1 **+3**	220
Paladio (Pd)	**+2** +4	670
Plata (Ag)	+1	270
Cadmio (Cd)	**+2** +3	70
Renio (Re)	**+1** +3 (+4 +7)	100
Osmio (Os)	**+2** (+3 +4) +6 (+8)	110
Iridio (Ir)	+1 **+3** (+4)	150
Platino (Pt)	**+2** +4	4400
Oro (Au)	**+1 +3**	590

Estados de oxidación en negrita: los más estudiados actualmente. Entre paréntesis: no se ha encontrado ningún ejemplo significativo en la literatura para estos estados de oxidación.

Una característica importante de los metales es su reactividad química. Sus estados de oxidación pueden variar en un amplio rango, desde +1 a +8. Generalmente, a estados de oxidación más altos, las especies metálicas serán más oxidantes. Sin embargo, el uso de oxidantes fuertes no es aconsejable, puesto que interfieren el control redox celular y podrían distorsionar con las interpretaciones de los resultados biológicos [4]. Además, la síntesis se puede complicar: los metales deben ser químicamente compatibles con los ligandos y los complejos deben permanecer estables, un punto especialmente importante para futuros en los ensayos clínicos.

Muchos medicamentos contra el cáncer actualmente en uso clínico funcionan ya sea interactuando con el ADN a través de interacciones covalentes y no covalentes. La interacción covalente que lleva a una unión fuerte es irreversible y causa la inhibición de todos aquellos procesos de replicación del ADN con la posterior muerte celular. Los aductos covalentes también pueden afectar el proceso de transcripción y replicación a través de la distorsión de la estructura molecular del ADN. El modo de unión no covalente es generalmente más específico y selectivo, y se prefiere sobre un modo covalente. Estos agentes pueden traer cambios en la conformación del ADN originando tensiones

torsionales, interrumpir las interacciones proteína/ADN, como las topoisomerasas. Esto conducirá, posteriormente a la escisión de las hebras de ADN. Se pueden incrementar la eficiencias terapéuticas y farmacológicas de los compuestos, introduciendo en los fármacos citostáticos iones metálicos que mejoran su coordinación con el ADN.

El estudio de las interacciones fármaco/ADN es muy importante para encontrar fármacos eficaces en terapias oncológicas [4].

2.1 Modos de unión de fármaco-ADN

Para obtener una visión detallada de este tema, es necesario conocer la cinética, el mecanismo y las energías que intervienen en la interacción fármaco-ADN. Por lo tanto, la comprensión de los mecanismos por los cuales los fármacos interactúan con los ácidos nucleicos y su correlación con los efectos biológicos que causan es objeto de gran atención por parte de la comunidad científica.

Independientemente del tipo de fármaco, en general las interacciones fármaco-ácido nucleico inducen cambios en la estructura del ácido nucleico que pueden resultar en alteraciones conformacionales, modificando así la secuencia de ADN y afectando la integridad de la información genética. Estos cambios pueden alterar la transcripción y replicación del material genético, que llevan a la inhibición de la síntesis de proteínas o dar lugar a una síntesis de proteínas y enzimas con estructuras modificadas que afecten a la actividad de éstas. Cuando las mutaciones van acompañadas de cambios en la información genética de una célula germinal, la progenie puede heredar dicha mutación. Cuando ocurren en células somáticas de organismos complejos, las mutaciones pueden inducir cambios irreversibles que pueden terminar en el crecimiento tumoral.

Se pueden distinguir varias formas de interacción fármaco-ADN. En primer lugar, los medicamentos pueden interactuar con proteínas que se unen al ADN, como las polimerasas y los factores de transcripción. Otra forma, consiste en la interacción del ADN con moléculas pequeñas, generalmente complejos de coordinación que, en la mayoría de los casos, ejercen su efecto antitumoral dañando los sistemas de replicación del ADN ya sea por unión covalente o no covalente.

Los fármacos de unión al ADN se pueden clasificar según sus tipos de asociación con la molécula diana (***ver figura 1***):

- Agentes de unión covalentes
- Intercaladores

- Agentes de ligadura de surcos

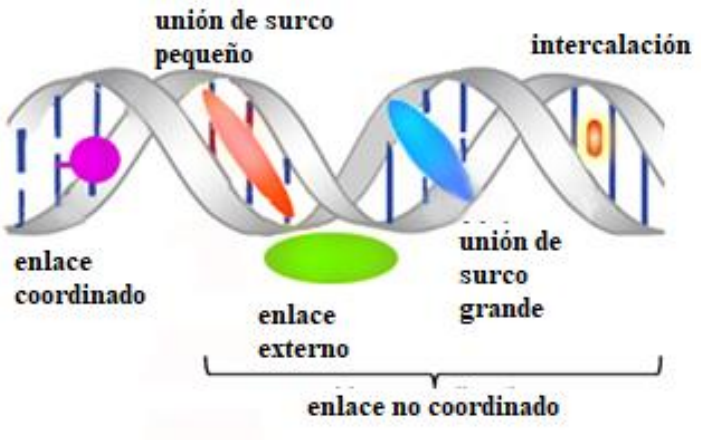


Figura 1. *Representación esquemática de los modos de unión al ADN de los complejos de metlicos*[29]

2.1.1 Unión Covalente

Aunque la unión covalente de complejos metálicos con ácidos nucleicos está en general controlada cinéticamente, la tasa y la velocidad de la adición del metal puede ser convenientemente modulada por un equilibrio de unión no covalente (pre-asociación). Como el ADN es un polianión, el paso previo a la asociación es particularmente significativo si el complejo metálico es de naturaleza catiónica.

La unión covalente genera especies (aductos covalentes) que impiden la replicación celular. La ***Figura 2A*** muestra los sitios de unión en los que los agentes pueden formar aductos con los nucleótidos, mientras que la ***Figura 2B*** muestra la unión del agente antitumoral *cisplatino* al sitio N7 de dos guaninas contiguas de la cadena de ADN.

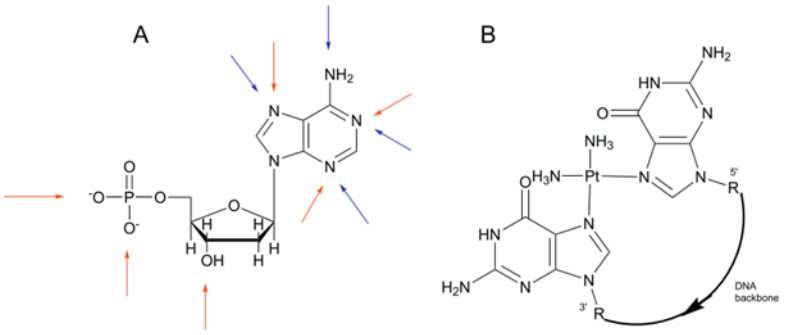


Figura 2. (A) Sitios de reacción en los que los agentes externos pueden enlazarse con los nucleótidos. En rojo: lugares de unión de metales. En azul: sitios de reacción de alquilación y nitración. (B) Estructura química del aducto formado por complejación del *cisplatino* con dos guaninas contiguas en el dinucleótido d(GpG) [5]

2.1.2 Unión no covalente

Muchos de los medicamentos utilizados hoy en día como anticancerígenos, que pueden ser metalofármacos o fármacos de base principalmente orgánica, ejercen sus efectos mediante interacciones no covalentes con los ácidos nucleicos; intercalación y ajuste de ranuras entre hebras, son los principales modos de interacción no covalente.

La intercalación, ver ***Figura 3A***, consiste en la inserción de la droga entre los pares de base vecinos, desenrollando las hebras para obtener un apilamiento π entre dos pares de base. Este proceso implica la distorsión de la conformación de la molécula del ADN y, por lo tanto, se produce una interferencia en la interacción proteína-ADN. Además, pueden interferir con el reconocimiento y la función de proteínas asociadas al ADN como topoisomerasas, polimerasas, sistemas de reparación del ADN y factores de transcripción, lo que provoca ralentización o incluso inhibición de los procesos de transcripción y replicación.

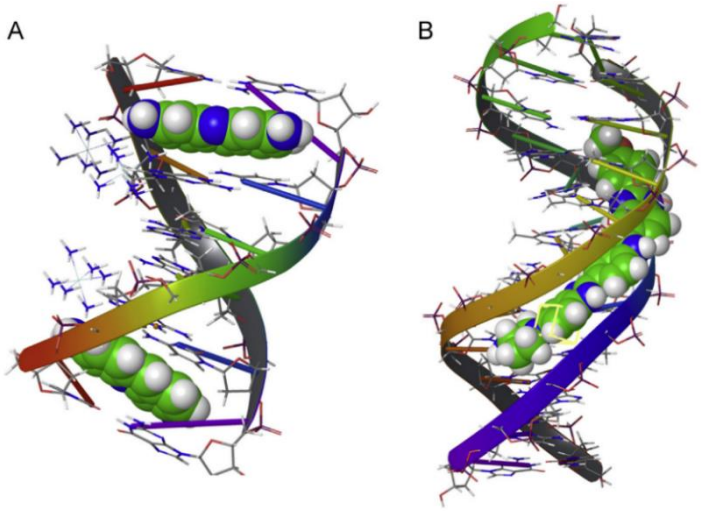


Figura 3. Tipos de unión no covalente: (A) Distorsión causada por la intercalación de proflavina entre dos pares de bases adyacentes de la doble hélice. (B) Reconocimiento de surco menor de ADN de un fármaco de tris-bencimidazol [5]

El conocimiento del comportamiento fisicoquímico del sistema de reacción puede ser de ayuda para dilucidar la acción biológica de fármacos capaces de interactuar con el ADN. Los intercaladores se caracterizan por tener una estructura aromática plana extendida.

El potencial electrostático altamente negativo en los surcos del ADN desempeña un papel clave como origen de la unión en los surcos (ver ***Figura 3B***). Se ha afirmado que pequeñas moléculas en forma de media luna, se unen al ADN a través del surco menor.

Por otro lado, los surcos menores tienen un número reducido de sitios de unión y son de menor tamaño, con una profundidad de 8,2 Å. Sin embargo, los surcos menores a menudo tienen la ventaja de permitirse ceder espacio para facilitar la unión de moléculas pequeñas. Dado que la mayoría de los antibióticos y los medicamentos anticancerígenos son moléculas pequeñas, el surco menor es, de hecho, el principal sitio de unión. Los efectos electrostáticos entre las especies catiónicas y la cadena de fosfato del ADN (cargada negativamente), podrían ser importantes para mejorar la unión de moléculas pequeñas. En general, estas interacciones clásicas de unión externa, mayormente se producen en el exterior de la hélice, que pueden ser exclusivamente electrostáticas o enlazadas a los surcos.

2.1.3 Interacciones electrostáticas

Son aquellos tipos de interacciones basadas principalmente en la atracción columbiana (interacciones muy fuertes, aunque menos específicas que las anteriores).

Los efectos electrostáticos entre las especies catiónicas y los grupos fosfato del ADN, podrían ser importantes para mejorar la unión de moléculas pequeñas. En general, estas interacciones clásicas de unión externa, mayormente se producen en el exterior de la hélice.

La interacción electrostática, también llamada asociación externa implica la acción del ADN como una "estructura" que permite la interacción externa fármaco-fármaco. Este tipo de interacción implica cambios en los espectros de absorción UV (efecto batocrómico), que constituye una diferencia notable con respecto a una interacción electrostática pura, cuyos espectros de absorción permanecen inalterados. Las constantes de unión de la asociación externa ($\Delta G = -12{,}6$ kJ mol^{-1}) son bajas en comparación con la intercalación. Tanto la intercalación como la asociación externa requieren ligandos aromáticos planos. [5]

2.2 Mecanismos de resistencia a los metalofármacos

Ahondaremos en estos mecanismos de reparación usando como ejemplo al *cisplatino*. Un problema importante en la terapia con *cisplatino* es que la repetida exposición al fármaco provoca que el cáncer que está siendo tratado muestre finalmente resistencia a la acción terapéutica, lo que obliga a la suspensión del tratamiento. Parece razonable incrementar la dosis del fármaco suministrada al paciente, pero el *cisplatino* tiene una ventana terapéutica muy estrecha; esto significa que la diferencia entre la dosis realmente eficiente

frente al cáncer que se trata y la dosis que empieza a ser tóxica para el paciente es bastante pequeña. Desde una perspectiva molecular, la resistencia manifestada por las células hacia el *cisplatino* puede deberse a la aparición de mecanismos que bloqueen la entrada o que movilicen el fármaco (algunas veces en una forma química diferente a como entró) hacia el exterior de la membrana celular. Es posible que las propiedades de la membrana de las células tumorales impidan el acceso del *cisplatino* al interior. Otro aspecto relacionado con la resistencia de las células tumorales al fármaco está en las altas concentraciones de glutatión y *apo-metalotioneína* en esas células. También esa resistencia puede ser la consecuencia de un efectivo proceso de reparación de los fragmentos metalados en los aductos ADN-*cisplatino* antes de que se dispare el mecanismo de apoptosis.

2.2.1 Mecanismos que promueven la no acumulación por transporte intra- y extra-celular

En el año 2000, Komatsu *et al*, indicaron que puede haber una conexión entre las proteínas transportadoras responsables de la regulación de los niveles de cobre en la célula y la farmacodinámica del *cisplatino*. Estos investigadores encontraron que las células que manifestaban resistencia a la acción terapéutica del *cisplatino* presentaban una gran concentración, en la membrana de esas células, de proteínas específicas en la regulación del flujo de salida del cobre intracelular, las ATP7A y ATP7B (ATP dependientes), sugiriendo que aparte de remover el cobre intracelular, estos transportadores son capaces de expulsar el platino del interior de las células (ver ***figura 4***). Otros autores han sugerido[6] que la resistencia celular al *cisplatino* está relacionada con la concentración de proteínas implicadas en la afluencia del cobre al interior de las células, la CTR1, sugiriendo que el *cisplatino* puede utilizar esta proteína trasportadora de cobre para introducirse en el interior de las células. Sin embargo, estudios llevados a cabo sobre las interacciones entre esta proteína y la droga, utilizando péptidos modelo, han mostrado que el *cisplatino* y complejos análogos pierden todos sus ligandos cuando se enlazan a los restos de metionina, que se encuentran en un gran número en las secuencias de los péptidos.[7,8]

Aunque diferentes drogas antitumorales basadas en el platino comparten algunos de los transportadores *de entrada y salida* de la célula, los mecanismos moleculares que tienen lugar están solo en parte solapados. En las células resistentes al *cisplatino*, la acumulación parece depender de la lipofilicidad de la droga; un incremento en la lipofilicidad favorece la acumulación del fármaco. La lipofilicidad de la droga puede ser un factor clave para esquivar la resistencia celular.

2.2.2 Mecanismos de detoxificación

Cuando las células desarrollan resistencia al *cisplatino* hay una gran cantidad de evidencias que apuntan a que las concentraciones de glutatión (GSH) y *apo-metalotioneína* (MT), que normalmente se mantienen en valores de concentración entre 2 a 5 mM en el citosol celular, aumentan en presencia de platino en el interior de la célula. Tanto el glutatión como la *apo-metalotioneína* forman aductos muy estables con el Pt^{2+} por formación, entre otros, de enlaces Pt-S que efectivamente comprometen la habilidad del platino para reaccionar con otras moléculas en el interior de la célula. El incremento en los niveles de estos *guardianes celulares* favorece el mecanismo de resistencia molecular hacia el fármaco. La formación de estos aductos debería reducir la cantidad de platino intracelular disponible para su interacción con el ADN. La coordinación del *cisplatino* con la GSH es catalizada por el *glutatión S-transferasas* (GSTs). Este proceso hace al *cisplatino* más fácilmente exportable de las células por una pro- teína exportadora específica, ATP dependiente, la GS-X o *bomba exportadora de la glutatión-S-conjugada* (***Figura 4***).[9]

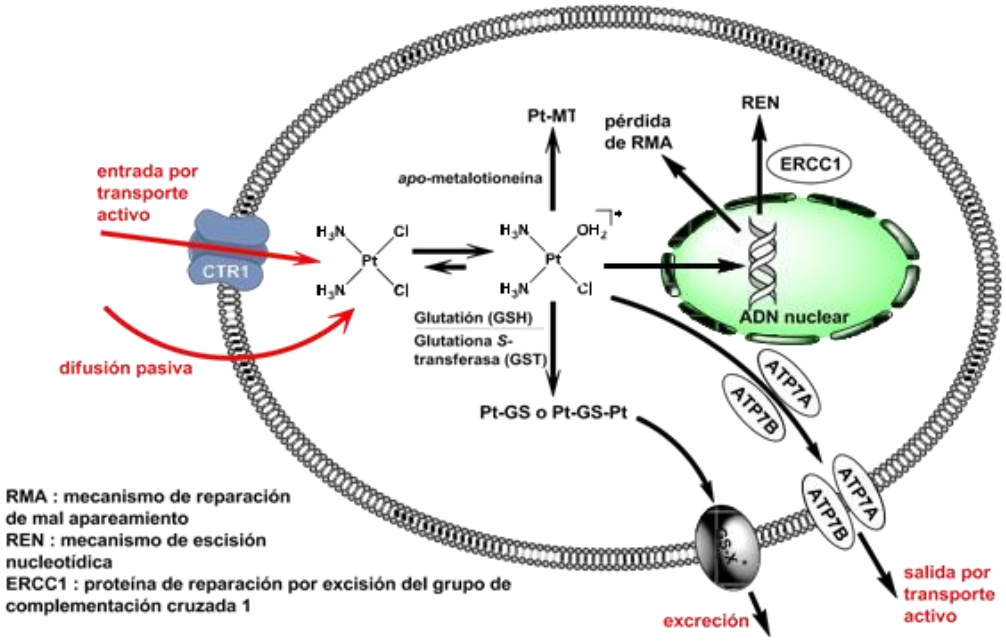


Figura 4. Eventos clave en la resistencia celular a las drogas antitumorales basadas en el platino.

2.2.3 Mecanismos de reparación que incrementan la tolerancia celular al ADN dañado

Los mecanismos celulares que llevan a una mejora en la reparación celular del ADN pueden contribuir a la resistencia que manifiestan las células tumorales al *cisplatino*. Muchas líneas celulares de varios tipos de tumores han mostrado un incremento en la capacidad reparadora del ADN en comparación a sus homólogas sensibles. Existen una serie de proteínas que interactúan con o en respuesta al ADN dañado por el *cisplatino* modulando la sensibilidad celular hacia la droga antitumoral por su participación en varias vías bioquímicas, ver ***Figura 5***.

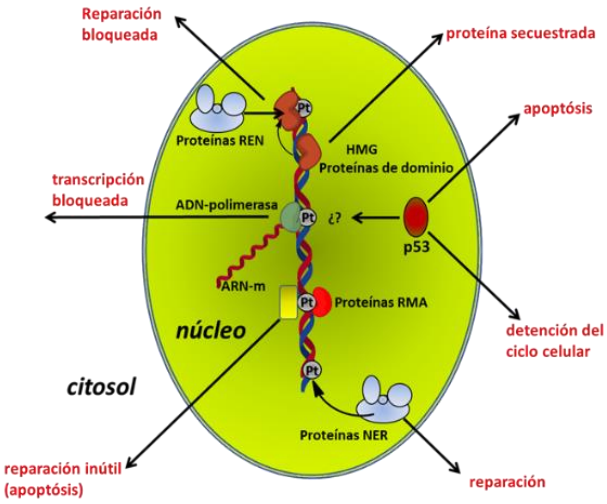


Figura 5. Efectos de los sitios de platinación del ADN sobre algunas proteínas nucleares que intervienen en procesos de reparación y apoptosis.

El *mecanismo de reparación por escisión nucleotídica* (REN), se ha identificado como el más importante para reparar el ADN dañado por el *cisplatino*. En particular, la expresión de la proteína ERCC1 (proteína reparadora por escisión cruzada de complementación de grupo 1) se ha correlacionado con la resistencia a las drogas de platino. Por ejemplo, la supresión de la expresión de ERCC1, puede disminuir la efectividad del mecanismo de reparación por escisión de las lesiones en el ADN inducidas por el *cisplatino* y mejorar la sensibilidad celular a éste.

El incremento en la tolerancia al ADN platinado puede ocurrir también como consecuencia de la pérdida de actividad reparadora en el *mecanismo de reparación de malapareamiento* (RMA). Las drogas basadas en el platino interfieren en la actividad normal del mecanismo RMA y evitan que la reparación del sitio platinado se complete, llevando

a la respuesta apoptótica.

Otro mecanismo de tolerancia hacia las drogas basadas en el platino implica una mayor derivación en los mecanismos de replicación y transcripción. Los sitios de platinación del ADN pueden ser *puenteados* por las ADN- polimerasas b y h a través de un proceso denominado *síntesis translesión* o *reparación sobre la marcha*. Se han realizado experimentos cuyos resultados señalan que la inhibición de la ADN-polimerasa h podría incrementar la eficiencia anticáncer del *cisplatino* [10].

2.2.4 Disminución de la respuesta apoptótica y activación de vías de supervivencia

La respuesta apoptótica reducida se ha aceptado como una característica de las células tumorales que exhiben resistencia intrínseca o adquirida al *cisplatino*. Frecuentemente este comportamiento se asocia a la actividad de la proteína de supresión tumoral p53, que es una fosfoproteína nuclear implicada en el control del ciclo celular, la reparación del DNA y la apoptosis (muerte celular programada). El reconocimiento de los sitios de platinación por parte del sistema REN puede mediar en procesos de transducción de señales que activan el sistema p53 que provocando la detención del ciclo celular, que permite la reparación del DNA incrementando la resistencia al *cisplatino*. Sin embargo, el papel de p53 en la respuesta de las células tumorales al *cisplatino* es todavía bastante ambiguo y todo apunta a que depende del tipo o circunstancia del tumor. Un papel dual puede ser observado para p53 en el tratamiento con drogas antitumorales basadas en el platino, o activar los mecanismos que llevan a la apoptosis o disparar procesos dirigidos a reparar el DNA y favorecer la supervivencia celular.

3 Revisión de las propiedades anticancerígenas del Pt, Ru, Au y Cu

Este trabajo describe brevemente el desarrollo de metalofármacos de platino, rutenio, oro y cobre con propiedades anticancerígenas. Destacando una descripción sistemática sobre los fármacos que incluye una breve historia, síntesis y el mecanismo de acción de estos.

3.1 Platino

3.1.1 Cisplatino

Desde el descubrimiento de su actividad anticancerígena en la década de los 70, el *cisplatino* y sus análogos se han vuelto ampliamente utilizados en medicina, siendo administrados al 40-80% de los pacientes sometidos a quimioterapia. La fascinante historia que implica el desarrollo de este fármaco continúa evolucionando en la actualidad, aspectos que incluyen avances en nuestra comprensión sobre la complejidad de las bases moleculares implicadas en su actividad anticancerígena y sus posibles efectos tóxicos. Mientras que el ADN genómico ha sido generalmente reconocido como diana farmacológica más crítica del *cisplatino*, los resultados reportados a través de múltiples disciplinas sugieren que hay otras interacciones moleculares que probablemente están involucradas en el modo de acción contra el cáncer y que explicarían además su toxicidad y la resistencia desarrollada por las células cancerosas a la droga antitumoral.[11]

No obstante, después de más de 30 años de uso clínico, el éxito del *cisplatino* en el tratamiento de pacientes oncológicos afectados por diferentes tipos de cáncer no es completo. De hecho, la larga práctica clínica de éste puso de manifiesto varios inconvenientes relacionados con su uso. Esto justifica el gran número de derivados que, a partir del *cisplatino*, fueron sintetizados y probados en innumerables ensayos clínicos. Desafortunadamente, el número de fármacos basados en el *cisplatino* aprobados en todo el mundo es bastante pequeño.

Un análisis crítico de la evolución de las generaciones de derivados del *cisplatino*, que han ido desarrollándose y probándose todos estos años, muestra cómo se han producido cambios en los objetivos que se llevan planteando para el diseño de nuevos fármacos metaloterapéuticos basados en este metal. Estos objetivos son:

- Mejora de la seguridad. Minimización de efectos secundarios.
- Espectro más amplio de la actividad antitumoral.
- Actividad oral.

- Reducción de la resistencia cruzada.
- Entrega mejorada.

A manera de resumen estos objetivos se encuentran en la ***Figura 6***.

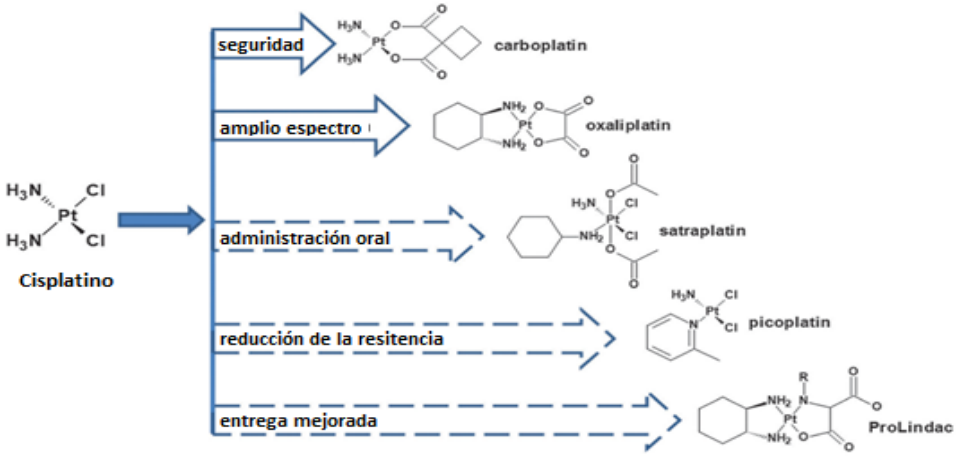


Figura 6. Derivados de *cisplatino* aprobados en todo el mundo (flechas sólidas) o en ensayos clínicos (flechas punteadas)[12]

Las estructuras químicas de los nuevos derivados confirman que están estrechamente relacionados con el *cisplatino*. Esto se debe en gran medida al objetivo de optimizar el perfil farmacológico preservando la base molecular del mecanismo de acción del *cisplatino*. Las características estructurales comunes de los fármacos basados en Pt clínicamente activos descansan en la coordinación en torno al ion metálico Pt^{2+}, de dos grupos no salientes/portadores, generalmente aminas o grupos orgánicos conteniendo aminas, y de dos grupos salientes dispuestos en *cis*, haluros o moléculas orgánicas conteniendo grupos carboxilato. Generalmente, se requiere un paso de activación, correspondiente a la acuación, para permitir la platinación eficiente del ADN. La velocidad del proceso de platinación de alguna manera está controlada por la naturaleza de los grupos salientes (p. ej. Los cloruros son más eficientes que los carboxilatos). La geometría *cis* del complejo metálico nos permite formar aductos mono/bidentados con el ácido nucleico que llevan a características estructurales distintas de las producidas por los análogos *trans*. Tales aductos, debido a las modificaciones estructurales únicas que inducen en el ADN de doble cadena, conducen a la activación de estímulos apoptóticos y, en última instancia, a la muerte celular.

Con esto el ADN parece ser el lado positivo de la historia, a diferencia de innumerables proteínas que pueden ser consideradas como el lado oscuro. La naturaleza bifuncional de estos complejos metálicos no limita la reactividad hacia la doble hélice. De

hecho, la presencia de dos grupos salientes les permite reaccionar con otras moléculas incluso antes de que lleguen al núcleo. Esto ocurre fácilmente con proteínas cuyos restos de histidina, cisteína y metionina que representan buenos puntos de coordinación reactivos para el platino. Sin embargo, conforme a la evidencia básica observada, las proteínas se han considerado principalmente como responsables en la reducción de la biodisponibilidad y la toxicidad de los complejos de platino.[12]

3.1.2 Carboplatino

El carboplatino, [Pt(cbdca-*O,O´*) $(NH_3)_2$] (***Figura 7***), donde cbdca es ciclobutano-1,1-dicarboxilato. Se le considera un fármaco anticancerígeno de segunda generación basado en el platino, que es mucho menos ototóxico y nefrotóxico que el *cisplatino*. El medicamento, que fue informado y patentado por Cleare y Hoeschele en 1973, obtuvo

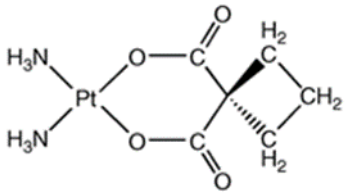


Figura 7. *Estructura del carboplatino*[13]

la aprobación de la Administración de Medicamentos y Alimentos de los Estados Unidos (FDA) bajo la marca Paraplatin en 1989. La diferencia clave entre las estructuras de carboplatino y *cisplatino* es que el primero posee un anillo de dicarboxilato de seis miembros que, debido al efecto quelante, lo hace mucho menos reactivo químicamente que el *cisplatino*. El carboplatino por sí solo o en combinación con otros medicamentos tiene un uso clínico mundial para el tratamiento de una variedad de cánceres diferentes, incluido el cáncer de cabeza y cuello, tumores de ovario, mama, cáncer de pulmón de células pequeñas, testicular, vejiga y cerebro. Aunque el carboplatino es mucho menos ototóxico y nefrotóxico que el *cisplatino*, es mielosupresor, lo que conduce a una reducción en el recuento de glóbulos blancos en la sangre, exponiendo al paciente a la infección por diversos microorganismos por inmunodepresión.[13]

La síntesis del carboplatino corresponde a una síntesis por etapas que se muestra en la ***figura 8***.

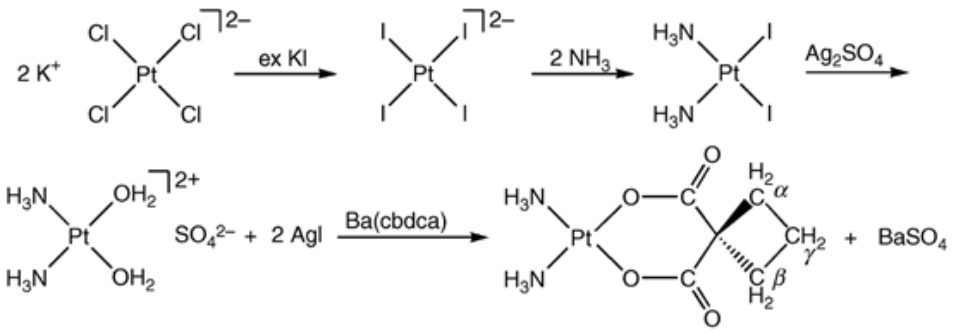


Figura 8. Síntesis del carboplatino[13]

3.1.3 Oxaliplatino

Oxaliplatino (Eloxatin), [Pt (ox-*O,O´*) ((1R,2R)-dach-*N,N´*)], donde ox- es oxalato y 1R,2R-dach- es el 1R,2R-diamino-ciclohexano (***Figura 9***), es un medicamento anticancerígeno de platino que obtuvo la aprobación para uso clínico en la Unión Europea en 1999 y en los Estados Unidos en 2002. El oxaliplatino es especialmente efectivo en combinación con 5-fluorouracilo (5-FU) contra el cáncer colorrectal metastásico y es mucho menos nefrotóxico y ototóxico que el *cisplatino*. Además, el oxaliplatino puede usarse

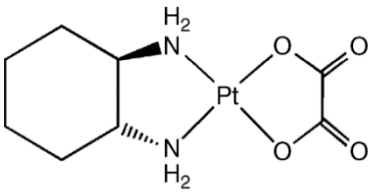


Figura 9. Estructura del oxaliplatino[13]

para tratar tumores resistentes al *cisplatino*, y es menos mielosupresor que el carboplatino. Una limitación del oxaliplatino es que el fármaco induce neuropatía periférica (daño nervioso), lo que afecta al tacto y a la sensación de frío, síntomas que ocurren rápidamente después de la administración del fármaco y que afortunadamente son reversibles para una exposición ocasional (aguda). Dado que los iones Ca^{2+} son importantes en el sistema de señalización neuronal, esta forma de neuropatía puede ser causada por la complejación del ligando oxalato liberado del fármaco, base dura, con Ca^{2+}, ácido duro. En los tratamientos prolongados la neuropatía inducida por el oxaliplatino no es totalmente reversible. Se cree que esta forma de daño nervioso está relacionada con la acumulación del fármaco en las células ubicadas en los ganglios de la espina dorsal.[13]

La síntesis del oxaliplatino corresponde a una síntesis por etapas que se muestra en la ***figura 10***.

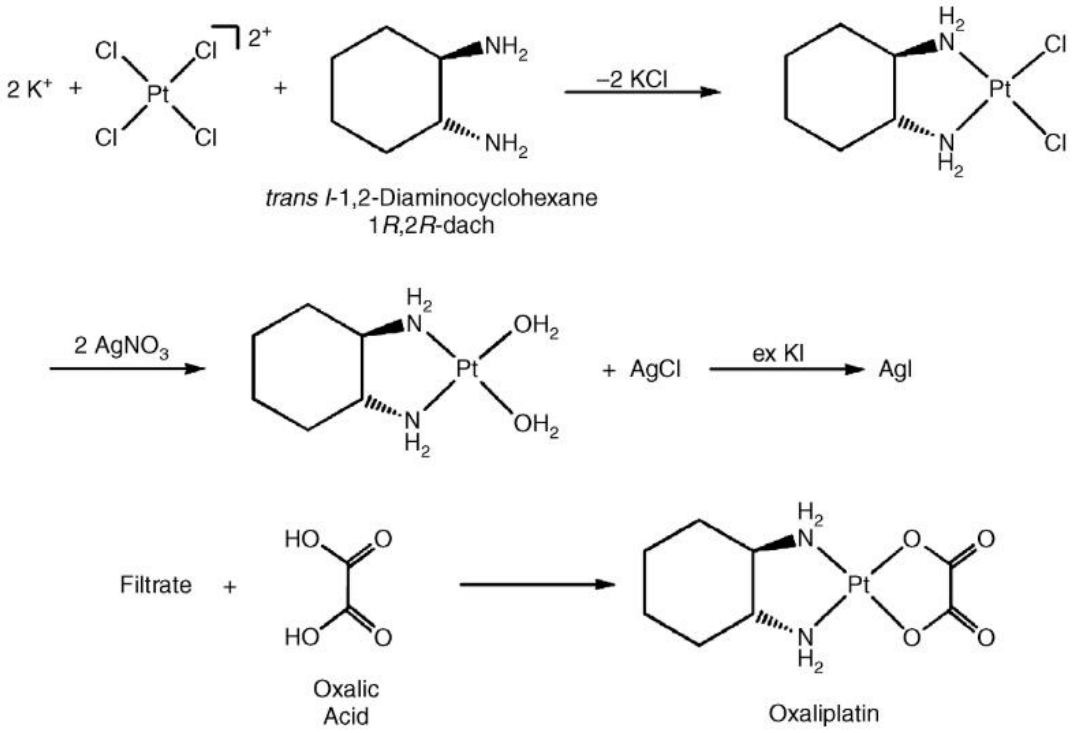


Figura 10. Síntesis del oxaliplatino[13]

3.1.4 Picoplatino

La innovación química del picoplatino es la presencia de un ligando 2-metil piridina (ver ***figura 11***). Dado que este ligando debe colocarse aproximadamente perpendicular al plano de coordinación del ion metálico, el grupo metilo en la posición 2 del heterociclo

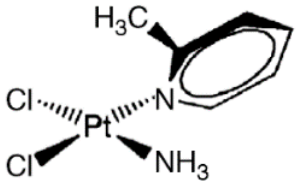


Figura 11. Estructura del picoplatino[13]

se posiciona sobre el plano medio que forman los ligandos y el ion metálico. En vista de que las reacciones de sustitución en Pt^{2+} son de naturaleza asociativa y que el nucleófilo ataca al metal a través del eje z para producir un estado de transición de cinco miembros, se esperaría que las reacciones de sustitución con picoplatino fueran más lentas que

aquellas con complejos similares que no tienen esta característica estérica.

Las mediciones de las velocidades hidrólisis del picoplatino llevadas por Sadler *et al* mostraron que se produce un desplazamiento de un ligando Cl^- *trans* al ligando de piridina por una molécula agua. El tiempo de vida media de esta reacción, $t_{1/2}$, a 37°C es de aproximadamente de 6 horas. Estos mismos autores han señalado que el desplazamiento del ligando Cl^- *trans* a la molécula de amoníaco tiene un $t_{1/2}$ de 8,7 horas. Dado que ambos valores son mayores que $t_{1/2}$ para la primera hidrólisis de *cisplatino* (1,05 horas), los efectos estéricos del grupo metilo efectivamente afectan significativamente a la cinética de la reacción de hidrólisis.

Mientras que picoplatino se administra mediante inyección intravenosa, el agente parece tener una buena biodisponibilidad cuando se administra por vía oral; es decir, una cantidad significativa de platino alcanza la sangre por este medio. Los efectos secundarios del picoplatino incluyen náuseas, vómitos, anorexia y un sabor metálico transitorio, pero no hay o hay muy poca nefro o neurotoxicidad. El picoplatino se encuentra actualmente en ensayos clínicos en los Estados Unidos, donde se utiliza solo o en combinación con otros medicamentos para el tratamiento de tumores y linfomas sólidos, y cáncer colorrectal y de próstata.[13]

3.1.5 Satraplatino

El satraplatino, bis(acetato) dicloro amino (ciclohexilamina) platino (IV) es un complejo de Pt^{4+} (ver ***figura 12***) que se encuentra actualmente en estudios clínicos en los Estados Unidos, solo y en combinación con otros agentes, para el tratamiento de cáncer de pulmón de células grandes, diversos tumores malignos sólidos y cáncer de próstata

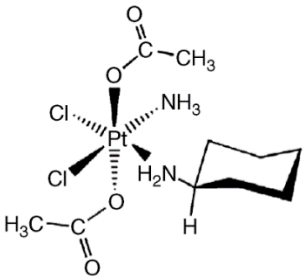


Figura 12. Estructura del satraplatino[13]

refractario. Una característica atractiva del satraplatino es que el agente antitumoral puede tomarse por vía oral en forma de píldora. Esta característica, que elimina el tratamiento hospitalario en la administración y en atención del paciente, se considera un avance

Extraordinario para la quimioterapia con platino.

El satraplatino contiene Pt^{4+}, que tiene una configuración electrónica $5d^6$. Los ligandos se colocan alrededor del ion metálico en una disposición octaédrica, induciendo un campo cristalino fuerte (el valor de Δ_o es grande). Este fármaco es un compuesto diamagnético de bajo spin. La gran magnitud del campo cristalino hace que las transiciones *d-d* del ion se encuentren en la región del UV-cercano (200-400 nm). Otra consecuencia del alto campo de cristalino para Pt^{4+} es que las reacciones de sustitución de ligando con el ion son generalmente lentas. Por ejemplo, la constante de velocidad de intercambio de agua de pseudo primer orden para *trans*-$[Pt(ox)_2(H_2O)_2]$ a 25 °C es $7{,}0 \cdot 10^{-6}\ s^{-1}$.

El satraplatino es el único fármaco que contiene platino administrado por vía oral en ensayos clínicos. Debido a que el estómago es un entorno químico muy agresivo que es altamente ácido y contiene muchas enzimas digestivas, los complejos metálicos que sufren reacciones de sustitución fáciles generalmente no sobreviven el paso desde el ambiente hidrolítico muy agresivo del estómago al tracto gastrointestinal superior, donde el pH es casi neutro y se produce la adsorción de la droga en la sangre. Sin embargo, el satraplatino, que es relativamente inerte al intercambio de ligandos, muy probablemente pasa al tracto gastrointestinal superior en gran parte sin alterar, donde se cree que el medicamento ingresa a la sangre para su distribución por todo el cuerpo.

Hall *et al*, han revisado el mecanismo de acción del satraplatino y otros compuestos antitumorales activos de Pt^{4+}. Si bien se cree que el ADN, al igual que otros fármacos de platino, es la diana molecular última para el satraplatino, la velocidad de unión de Pt^{4+} al ADN parece demasiado lenta para dar cuenta de los efectos antitumorales del medicamento, por lo que se cree que la bioreducción a Pt^{2+} es un paso crítico para la actividad biológica del agente.

Hambley *et al*, demostraron que los agentes antitumorales de Pt^{4+} probados en líneas celulares del cáncer de ovario del tipo A2780, pueden ingresar al interior de la célula y que la proporción de Pt^{4+} a Pt^{2+} dentro de la célula varía con la facilidad de reducción de los compuestos de Pt^{4+}. Los investigadores encontraron que los compuestos de Pt^{4+} que son más fáciles de reducir electroquímicamente dan la mayor cantidad de especies de Pt^{2+} dentro de la célula. Si bien los agentes reductores celulares son desconocidos, estos podrían ser aminoácidos que contienen azufre como la cisteína o la metionina que se encuentran en las proteínas u otras moléculas pequeñas en la célula.[13]

La síntesis del satraplatino corresponde a una síntesis por etapas que se muestra en la ***figura 13***.

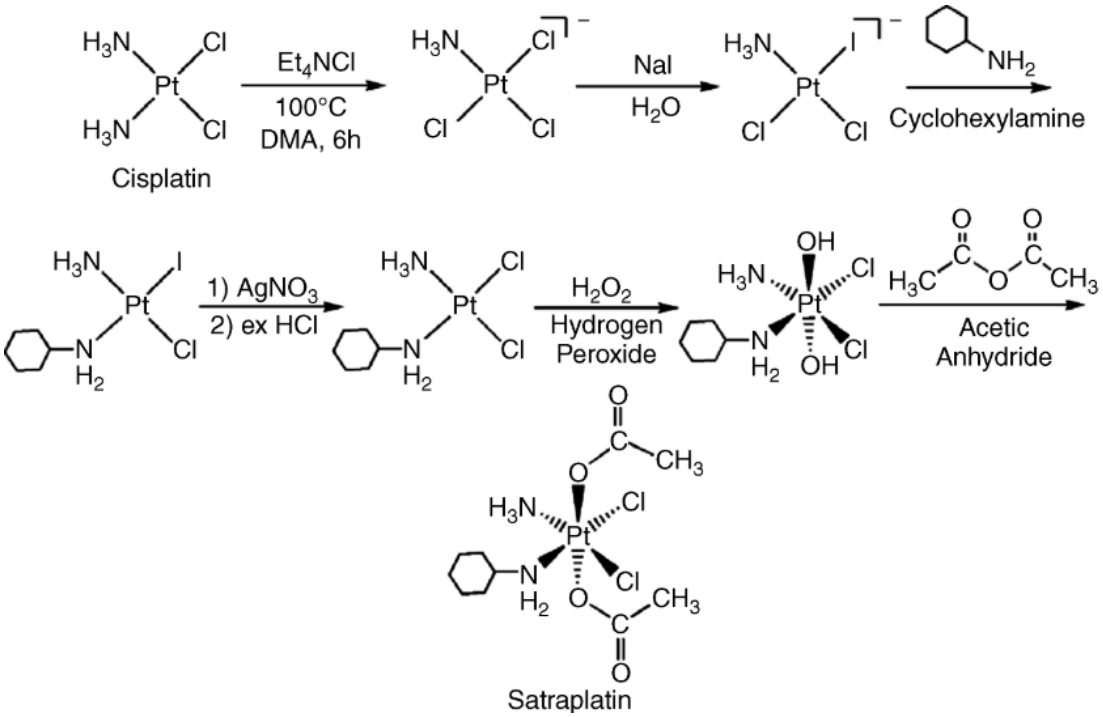


Figura 13. Síntesis del satrapaltino[13]

3.1.6 Complejos de platino asociados con ligandos afines a determinados transportadores

El rápido crecimiento y la proliferación de las células tumorales aumenta su consumo de nutrientes como glucosa, aminoácidos y ácidos grasos, que se utilizan para la producción de energía o como componentes básicos para la producción de ADN, ARN, proteínas y lípidos. Para satisfacer su mayor apetito, las células tumorales regulan al alza ciertos transportadores de nutrientes, incluidos los transportadores de glucosa GLUT1 y SGLT1 y los transportadores de aminoácidos xCT/4F2hc, LAT1/4F2hc, ASCT2 y $ATB^{0,+}$. Al incorporar nutrientes que facilitan la absorción de células tumorales, se cree que la selectividad tumoral de los complejos de platino se puede mejorar.

Liu *et al*[14], han preparado una serie de análogos de oxaliplatino funcionalizados con moléculas de glucosa **(a-c,** de la ***figura 14*****)**. El ligando oxalato de oxaliplatino se reemplazó con un ligando malonato para proporcionar un carbono extra como punto de unión para la molécula de glucosa. De manera similar a los complejos de oxalato, los complejos de malonato se caracterizan por una cinética de la acuación relativamente lenta. En vista de esto, se preveía que el grupo objetivo de glucosa permaneciera unido al centro de

platino en el torrente sanguíneo, y solo se liberaba una vez dentro de las células diana. Se encontró que los conjugados de platino(II)-glucosa eran hasta 10 veces más citotóxicos que el oxaliplatino en las células tumorales.

Para determinar si la mayor potencia de los complejos estaba relacionada con una mayor absorción por los transportadores de glucosa, se midió la citotoxicidad del compuesto **c** (ver ***figura 14***) cuando se administró junto con florizina, un inhibidor de SGLT (transportador de glucosa). Se reveló que la actividad del complejo se redujo enormemente en presencia de florizina, mientras que el inhibidor tuvo poco efecto sobre la citotoxicidad del oxaliplatino, lo que sugiere que la actividad anticancerígena de los conju-

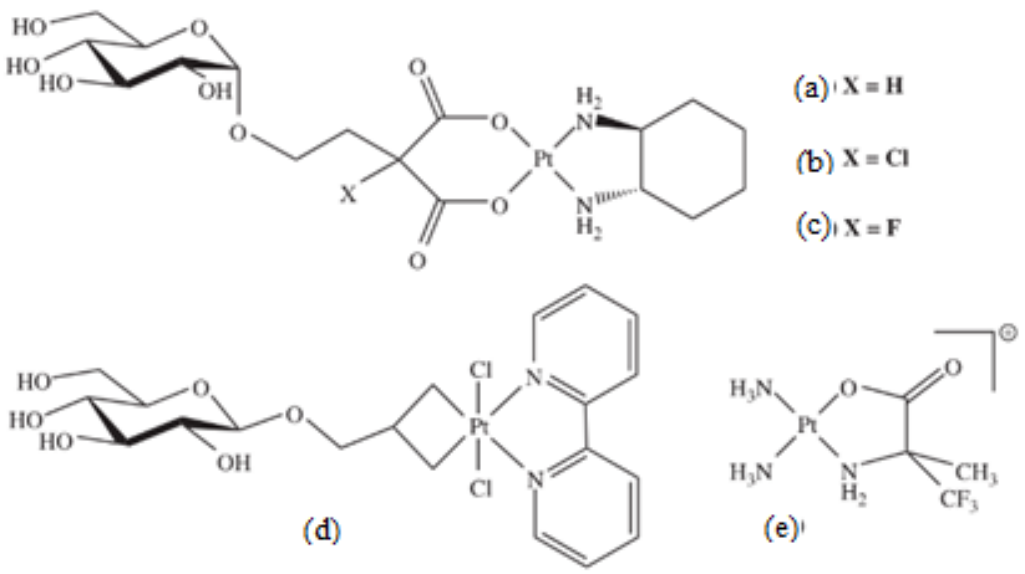


Figura 14. Complejos de platino que contienen ligandos dirigidos al transportador[17].

gados de platino(II)-glucosa depende en gran medida de la absorción por transportadores de glucosa. Finalmente, se informó que los conjugados eran aproximadamente cinco veces menos tóxicos para los ratones que el oxaliplatino. El complejo **d (**ver ***figura 14*****)** fue diseñado para ser transportado a las células tumorales por transportadores de glucosa, momento en el cual las reacciones metabólicas intracelulares eliminarían el grupo diana de glucosa del centro de platino. Margiotta *et al*[15], han investigado el uso de la α-trifluorometilalanina como ligando dirigido a aminoácidos no naturales para complejos de platino(II). $[Pt(NH_3)_2(R\text{-Tfm-Ala})]^+$ **(e,** de la ***figura 14*****)**, donde R-Tfm-Ala es el enantiómero (R) de trifluorometilalanina, es uno de los conjugados de platino-aminoácidos más citotóxicos reportados hasta la fecha, aunque todavía es menos activo que el cisplatino.

3.1.7 Compuestos de platino que explotan el efecto EPR

Otra característica de los tumores que puede explotarse para mejorar la selectividad tumoral de los complejos de platino es el entramado inusual del sistema circulatorio. Los vasos sanguíneos en los tumores son de forma irregular, con fugas y dilataciones. Como resultado, las moléculas grandes, como los polímeros y las nanopartículas presentes en el plasma sanguíneo, pueden filtrarse en el tejido tumoral y, al mismo tiempo, no pueden entrar en el tejido sano. Además, estas grandes moléculas tienden a ser retenidas por la masa tumoral debido al pobre drenaje linfático. Este fenómeno, denominado efecto EPR acrónimo inglés de *"Enhanced permeability and retention effect"* (concepto controvertido por el cual las moléculas de ciertos tamaños tienden a acumularse en el tejido tumoral mucho más de lo que lo hacen en los tejidos normales[16]), proporciona la oportunidad para emplear ligandos de alto peso molecular para administrar selectivamente complejos de platino a las regiones tumorales. Un posible inconveniente de los ligandos de alto peso molecular es que su tamaño puede restringir la penetración de complejos de platino en tumores sólidos, aunque esto aún no se ha investigado. Se han empleado varios tipos diferentes de ligandos de alto peso molecular en el contexto del diseño de fármacos de platino, incluidos polímeros, nanopartículas y nanotubos. Además, los grupos que se dirigen al receptor pueden unirse a ligandos de alto peso molecular para dotarlos de selectividad tumoral adicional.[17]

3.1.7.1 Complejos de platino con ligandos poliméricos

Los polímeros para explotar el efecto EPR deben ser biodegradables y no tóxicos, y deben contener grupos funcionales que permitan una conjugación simple con complejos de platino (ver ***figura 15***). Tras la absorción del tumor, es importante que los ligandos poliméricos liberen su carga de platino, permitiendo que se produzca la unión del ADN. En

vista de esto, los espaciadores escindibles que sufren degradación selectiva en las regiones tumorales son necesarios para unir los componentes de platino y polímero. Los enlazadores de platino-polímero pueden diseñarse para ser escindidos por enzimas cuya actividad se incrementa en las células cancerosas, o bien por reacciones hidrolíticas al pH de la célula tumoral.

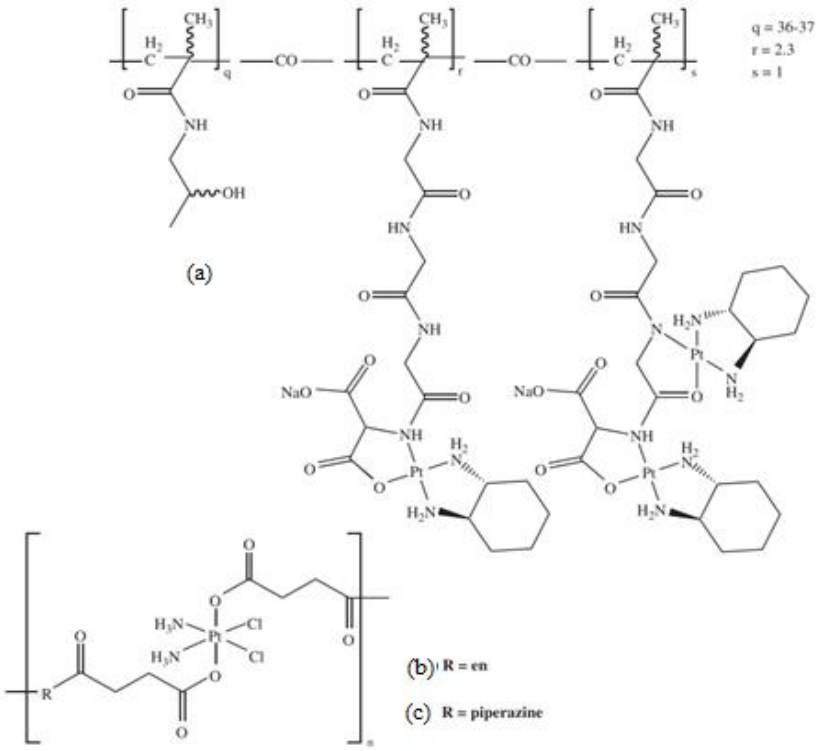


Figura 15. Complejos de platino que contienen ligandos poliméricos para explotar el efecto EPR. en = etano-1,2-diamina[17]

Actualmente, el conjugado platino-polímero más exitoso que se ha desarrollado es AP5346 (ProLindac™), (**a**, ver ***figura 15***), que consiste en un polímero de hidroxipropil-metacrilamida de peso molecular 25 kDa e hidrófilo, unido a múltiples unidades de un análogo de oxaliplatino a través de cadenas laterales de poliglicina sensibles al pH.[17]

3.1.7.2 Complejos de platino asociados a nanotubos de carbono

Los nanotubos de carbono son alótropos tubulares de carbono de tamaño nanométrico que se han unido a complejos de platino para mejorar su absorción tumoral a través del efecto EPR (ver ***figura 16***). Los nanotubos de carbono poseen una serie de ventajas como agentes de administración de fármacos, que incluyen una excelente permeabilidad de la membrana celular, largos tiempos de circulación y propiedades fluorescentes intrínsecas del infrarrojo cercano, que permiten mapear su distribución en los sistemas biológicos. Su gran área superficial permite su funcionalización con múltiples moléculas de fármacos, de modo que se pueden suministrar grandes cargas de agente citostático a los sitios tumorales. Aunque hay algunos informes de toxicidad relacionada con los nanotubos de carbono, la evidencia no es concluyente y la atención a factores como la longitud y la pureza puede permitir minimizar la toxicidad.

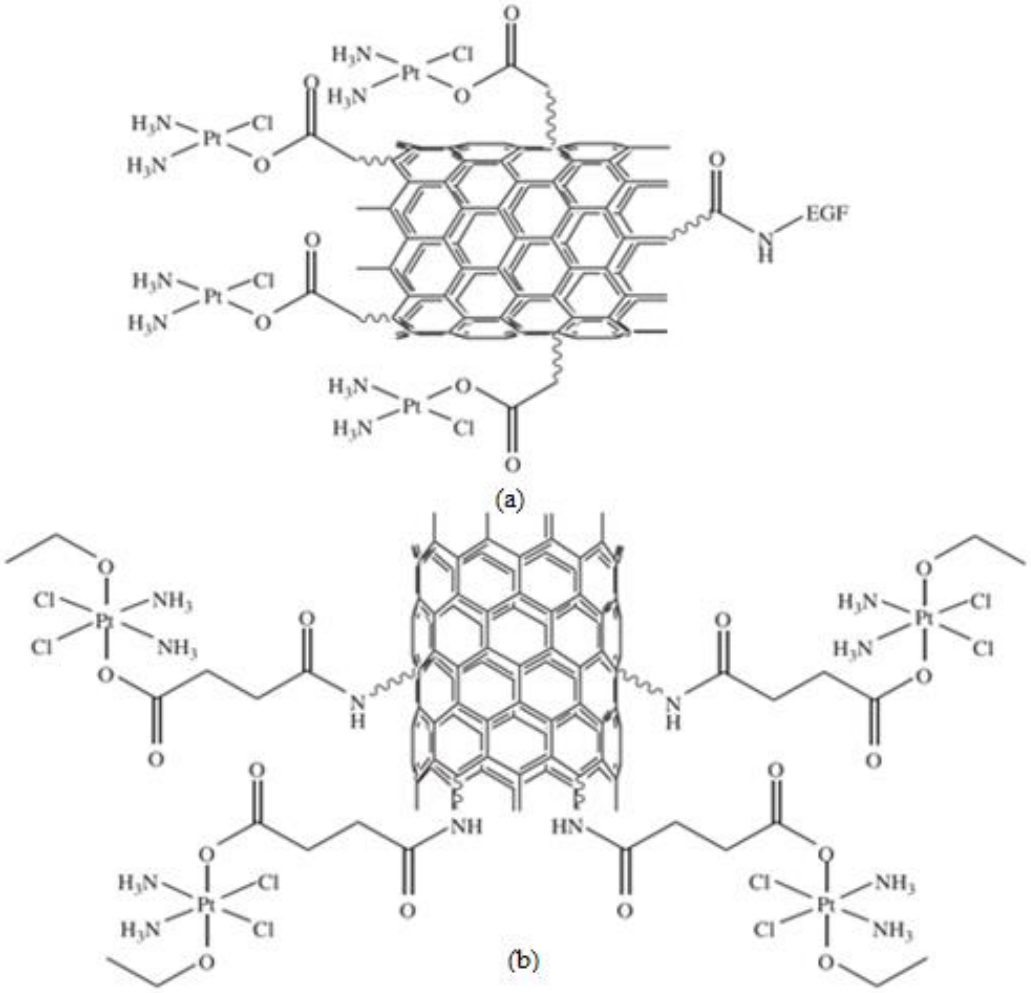


Figura 16. Complejos de platino que contienen ligandos de nanotubos de carbono de pared simple para explotar el efecto EPR. EGF = factor de crecimiento epidérmico.[17]

Lippard *et al*[18], han funcionalizado un nanotubo de carbono de pared simple con 65 unidades de un complejo de platino (IV), cada uno de los cuales está unido al nanotubo a través de un ligando succinato axial. En las células de carcinoma testicular NTera-2, se demostró que la IC_{50} del conjugado platino(IV)-SWNT (**b**, ver ***figura 16***) es 20 nM, lo que lo hace ligeramente más citotóxico que el cisplatino (IC_{50}= 50 nM). Además, se midió el doble de la cantidad de platino en las células tratadas con el conjugado que, en las tratadas con cisplatino, después de un período de incubación de 1,5 horas. Se cree que el conjugado ingresa a las células a través de la endocitosis, con lo cual la reducción del complejo libera cisplatino libre del SWNT. Cuando el ácido fólico se unía al otro ligando axial del complejo de platino (IV), se introdujo un modo de doble orientación, por el cual el conjugado resultante podría apuntar tanto al efecto EPR como a los receptores de folato, FR, (Los receptores de folato se unen al folato y a los derivados reducidos de ácido fólico

y median la entrega de tetrahidrofolato al interior de las células[19]).

3.1.7.3 Complejos de platino asociados a nanopartículas de oro

Las nanopartículas de oro son portadores útiles para explotar el efecto EPR, ya que son inertes, no tóxicas y fáciles de sintetizar y funcionalizar. Los conjugados de nanopartículas de oro con inclusión de fármacos son absorbidos por las células a través de la endocitosis, momento en el cual se requiere un mecanismo para liberar el fármaco de su portador.

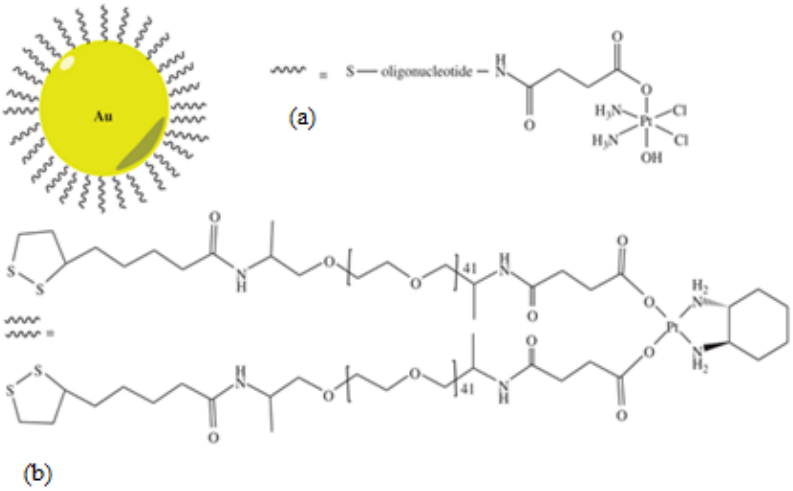


Figura 17. Complejos de platino que contienen ligandos de nanopartículas de oro para explotar el efecto EPR[17]

Wheate *et al*[20], han unido oxaliplatino a nanopartículas de oro como un medio para administrar el medicamento selectivamente a los tumores (ver ***figura 17***). Aproximadamente, unas 280 unidades de oxaliplatino fueron enlazadas en cada nanopartícula de oro, mediante coordinación de los grupos carboxilato terminales de los enlazadores de polietilenglicol, PEG, tiolados unidos a la superficie a cada unidad de platino. Después de la endocitosis en las células tumorales, se previó la acumulación de los complejos de platino (II) para liberarlos de la superficie de las nanopartículas, permitiendo que se produzca la unión del ADN. Después de incubar las células de cáncer de pulmón A549 durante 4 horas con oxaliplatino o con el conjugado oxaliplatino-nanopartículas (**a**, ver ***figura 17***), se encontró el doble de la cantidad de platino en las células tratadas con el conjugado. Además, las nanopartículas cargadas de oxaliplatino eran casi seis veces más citotóxicas que el medicamento huérfano en la misma línea celular.

Un análogo de platino (IV) de cisplatino que contiene un solo ligando succinato axial también se ha unido a nanopartículas de oro, formando enlaces amida entre los

grupos carboxilato de cada unidad de platino (IV) y oligonucleótidos funcionalizados con amina unidos a la superficie de las nanopartículas. Después de la endocitosis en las células, se esperaba que la reducción intracelular de cada unidad de platino (IV) liberara platino libre. De manera alentadora, se descubrió que el conjugado de nanopartículas de platino (IV) (**b**, ver ***figura 17***) era hasta 12 veces más potente que el cisplatino en una variedad de células tumorales.

3.1.7.4 Complejos de platino asociados a nanorods de oro

Los nanorods de oro exhiben tiempos de circulación más largos que las nanopartículas de oro, lo que les permite acumularse en mayor medida en los tumores. Poseen propiedades ópticas únicas y pueden irradiarse con longitudes de onda en el infrarrojo cercano, ya sea para visualizar tumores o para terapia fototérmica. Liu *et al* [21], han cargado cisplatino en nanorods de oro PEGilado para mejorar la selectividad tumoral del fármaco a través de la orientación pasiva (ver ***figura 18***). Los extremos funcionalizados

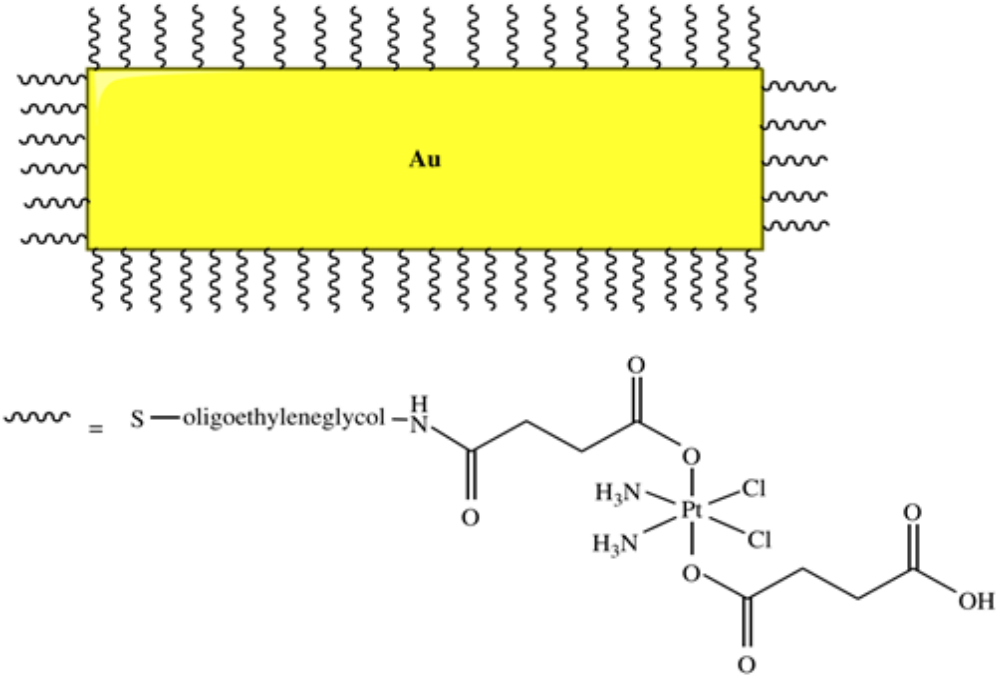


Figura 18. Complejo de platino enlazado a un nanorod de oro para explotar el efecto EPR[17]

con amina de los grupos PEG se acoplaron a una forma de profármaco de platino (IV), y se evaluó la citotoxicidad del nanorod cargado de platino resultante en un rango de líneas celulares tumorales. Se reveló que el conjugado platino(IV)-nanorod era más activo en células de cáncer de mama MCF-7, con un valor de IC_{50} de 0,18 μM, en comparación con 11,8 μM para cisplatino. Además, se demostró que la cantidad de platino acumulada en

las células MCF-7 tratadas con los nanorods cargados de platino era cuatro veces que las tratadas con cisplatino.

3.1.7.5 Complejos de platino fotoactivables

Otra estrategia para matar las células cancerosas, mientras se deja intacto el tejido sano, es desarrollar profármacos de platino que puedan activarse por la luz en sitios tumorales específicos. Sadler *et al* [17], han informado sobre una serie de complejos de platino (IV) que contienen ligandos azida que son relativamente estables y no tóxicos en la oscuridad y, lo que es más importante, no se reducen fácilmente con glutatión (ver ***figura 19***).

Las bandas de transferencia de carga, azida a Pt^{4+}, de estos complejos son adecuadas para la fotoactivación, y no se requiere de dioxígeno para ese proceso. Esto puede proporcionar una ventaja sobre la terapia fotodinámica, que requiere dioxígeno, luz visible y una sustancia química fotosensibilizadora para producir efectos antitumorales, reduciendo su eficacia en las regiones tumorales hipóxicas.

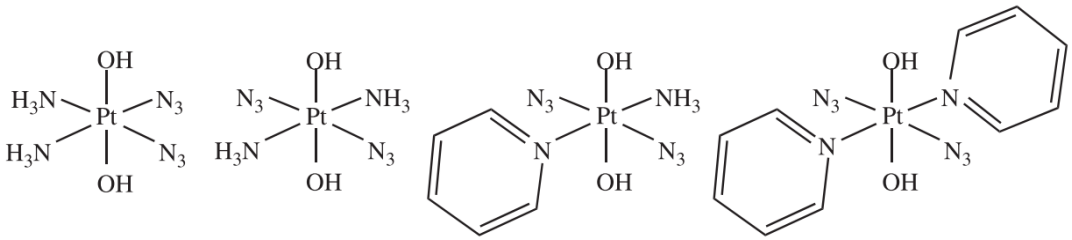


Figura 19. Complejos de platino que contienen ligandos fotoactivables[17]

3.1.8 Complejos de platino para combatir el cáncer de hueso

El cáncer de hueso se puede dividir en dos categorías:

(i) tumores que se originan en los huesos (principalmente osteosarcoma)

(ii) metástasis óseas que son derivada de otros cánceres, como el de mama, próstata y riñón.

A pesar de los extensos efectos secundarios del cisplatino, sigue siendo una de las quimioterapias más utilizadas para tratar el osteosarcoma. Para mejorar la selectividad del cisplatino para el cáncer de hueso y reducir su toxicidad sistémica, se pueden emplear ligandos dirigidos al hueso (ver ***figura 20***).

Los bisfosfonatos exhiben una alta afinidad por los cristales de hidroxiapatita ósea, lo que los convierte en candidatos atractivos para el tratamiento de diversas enfermedades óseas. Una ventaja importante de los bisfosfonatos es que son capaces de inhibir la resorción ósea mediada por osteoclastos, el mecanismo principal por el cual se produce la destrucción ósea en pacientes con osteoporosis y cáncer. Klenner *et al*[22], han examinado

los efectos antitumorales de dos complejos de platino(II)-fosfonato (**a** y **b**, ver ***figura 20***) en osteosarcomas trasplantables en ratas. Los bifosfonatos se incorporaron como ligandos salientes para permitir la liberación del componente de platino activo después de la unión al calcio de la matriz ósea de hidroxiapatita.

Piccinonna *et al*[23], han desarrollado complejos dinucleares de platino (II) y platino (IV) -bisfosfonato (**c** y **d**, ver ***figura 20***) y un análogo trinuclear de platino (II) -bisfosfonato (**e**, ver ***figura 20***) para combatir el cáncer de hueso. El análogo de platino (IV) fue diseñado para ser una versión más soluble en agua con mayor resistencia a los agentes reductores en la sangre.

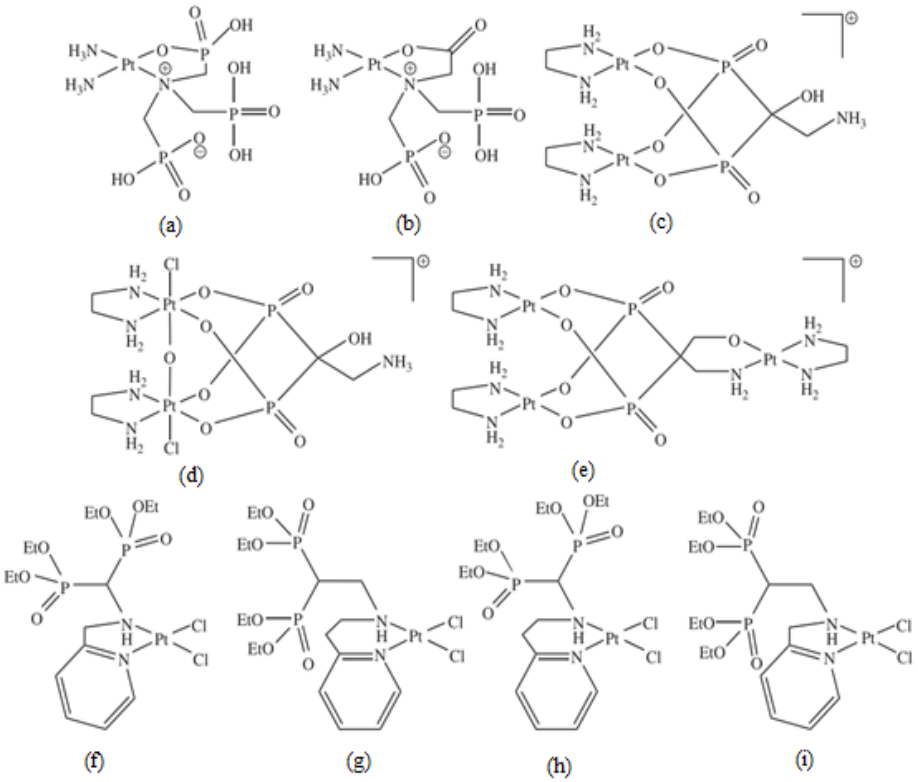


Figura 20. Complejos de platino que contienen ligandos dirigidos al hueso[17]

En un enfoque alternativo, Xue *et al*[24], incorporaron grupos de bifosfonato en los ligandos no salientes de una serie de análogos de picoplatino. Aunque un inconveniente de esta estrategia es que pueden dificultar la unión del ADN. De hecho, los estudios de dicroísmo circular y movilidad electroforética revelaron que los cuatro complejos exhiben una unión insignificante al ADN. En el osteosarcoma humano *tipo* MG-63 y las células de cáncer de ovario *tipo* COC1, los complejos **f** e **i** (ver ***figura 20***) mostraron cierta actividad antiproliferativa, aunque menos que el cisplatino. Los complejos **f** y **h** (ver ***figura 20***) mostraron actividad insignificante, probablemente debido a la distancia más corta entre el centro de platino y el grupo de bisfosfonato. La observación de que los complejos

g y **i** (ver ***figura 20***) producen actividad anticancerígena a pesar de la mínima unión al ADN sugiere un nuevo modo de citotoxicidad. Un ensayo apoptótico de **i** (ver ***figura 20***), el complejo con la actividad más alta demostró que el mecanismo por el cual causa la muerte celular es diferente al del cisplatino. Hasta el momento no se ha establecido si estos complejos son activos contra el cáncer de hueso.

3.2 Rutenio

Los complejos de rutenio, Ru, que se han utilizado ampliamente como catalizadores metálicos para innumerables transformaciones químicas, también son muy prometedores en el tratamiento del cáncer. Si bien algunos de estos agentes atacan y matan directamente el tumor primario, otros tienen la propiedad interesante de evitar que los tejidos enfermos liberen células tumorales que se propaguen a otras partes del cuerpo. Las estructuras y propiedades de estos compuestos varían desde complejos de coordinación tradicionales que pierden ligandos al interactuar directamente con dianas biológicas, hasta compuestos organometálicos que, además de unirse a dianas biológicas moleculares, pueden facilitar la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS en su acrónimo inglés), que modifican químicamente las biomoléculas en la célula. Además de matar células a través de la reactividad química, algunos compuestos de rutenio manifiestan sus efectos biológicos al actuar como inhibidores específicos de ciertas enzimas que son importantes para la supervivencia de la célula.[25]

Los complejos de rutenio presentan una serie de propiedades que los hacen atractivos como agente quimioterapéutico[26]. Por ejemplo:

- Acumulación selectiva en células cancerosas a través de la interacción con receptores de *transferrina*.
- Efectos antimetastásicos debidas a la inhibición en la liberación de células tumorales.
- Patrones de enlace al ADN únicos debidos a las geometrías y estructuras electrónicas de los ligandos.
- Capacidad para experimentar cinéticas favorables de intercambio de ligandos para interactuar y coordinar células tumorales.
- Activación de la hipoxia y microambiente ácido en las células tumorales.

El rutenio puede imitar al hierro al unirse a algunas moléculas biológicas. Recientemente, se ha discutido sobre la baja toxicidad de las terapias de rutenio debido a este hecho. Se ha sugerido que los productos terapéuticos de rutenio tienen una toxicidad inherentemente baja, pero que la capacidad del rutenio para imitar al hierro a menudo se confunde con la toxicidad. El rutenio pertenece al mismo grupo en la tabla periódica que el hierro, lo que se refleja en su alta afinidad por la *transferrina* y por su activación reductora en las células. Algunos compuestos de rutenio son excelentes candidatos para el desarrollo clínico, debido a su baja citotoxicidad y genotoxicidad, las diferentes cinéticas de intercambio de ligandos, su movilidad en el organismo, los mecanismos de activación y la alta actividad biológica[27].

Los complejos de rutenio son alternativas atractivas a los complejos de platino, debido a su rica química sintética y de coordinación aparte de que el rutenio puede adoptar, al menos, dos estados de oxidación que son estables en condiciones fisiológicas. Algunas clases de compuestos de rutenio poseen propiedades anticancerígenas y/o antimetastásicas tanto *in vitro* como *in vivo*, que a veces están acompañadas de una baja toxicidad [28].

La geometría octaédrica de los complejos Ru(II) y Ru(III) ofrece un amplio repertorio de estructuras moleculares, brindando potenciales propiedades como un alto grado de selectividad por los sitios biológicos que mejoran favorablemente atributos farmacológicos[29].

Los complejos antitumorales de rutenio pueden interactuar irreversiblemente con el ADN a través de enlaces de coordinación formados entre los centros de rutenio y las bases (***Figura 21***), los residuos de azúcar y el esqueleto fosfodiéster[29].

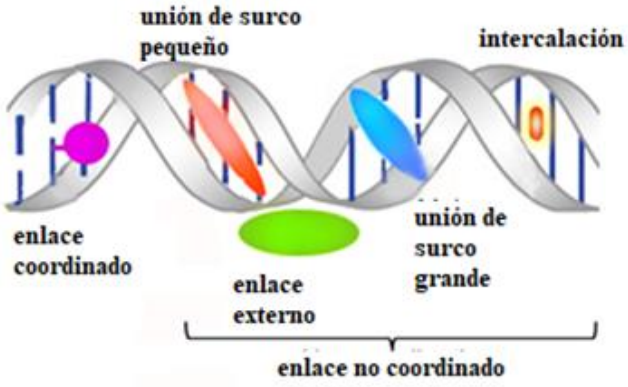


Figura 21. Representación esquemática de los modos de unión al ADN de los complejos de rutenio[29]

A pesar de que, hasta la fecha, los únicos complejos de rutenio que ingresan a los

ensayos clínicos están en el estado de oxidación 3+, parece haber un interés particular en los complejos organometálicos *tipo* "taburete de piano" con rutenio (II) pseudo-octaédricos en los que un ligando η^6-π areno se une a el metal formando el "asiento", mientras que los tres ligandos restantes que completan la esfera de coordinación forman las "patas". El areno coordinado al centro de rutenio dota al complejo de propiedades hidrofóbicas, facilitando su paso a través de las membranas celulares, mientras que los ligandos auxiliares restantes modulan las características del complejo dando lugar a distintos mecanismos de acción[30].

3.2.1 Estructura, síntesis y propiedades de los agentes antitumorales de rutenio

Se ha sintetizado y probado una gran cantidad de compuestos de rutenio por sus propiedades anticancerígenas; algunos se presentan en la ***figura 22***. Dos de los compuestos, NAMI-A y KP1019, que contienen Ru^{3+}, están en fase de ensayos clínicos, mientras que otros dos, el $[(\eta^6\text{-bifenil})Ru(en)Cl]PF_6$ y $[(\eta^6\text{-benceno})Ru(pta)Cl_2]$, que contienen Ru^{2+}, representan una nueva clase interesante y muy amplia de compuestos de areno con actividad antitumoral. Al igual que los medicamentos anticancerígenos de platino, estos compuestos parecen exhibir sus efectos biológicos al perder uno o más de sus ligandos unidos lo que le permite reaccionar con las moléculas diana en la célula. Sin embargo, algunos compuestos de rutenio, que exhiben efectos antitumorales, son relativamente inertes al intercambio de sus ligandos (***figura 23***) y se cree que exhiben sus efectos biológicos siguiendo mecanismos "no tradicionales". Por ejemplo, el compuesto [(η^6-*p*-

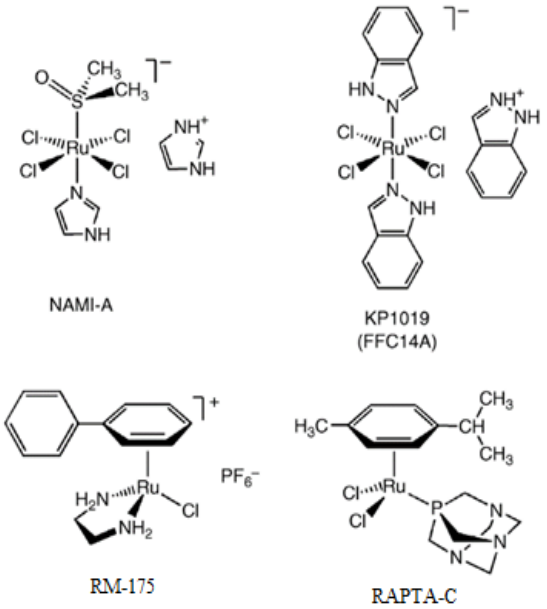
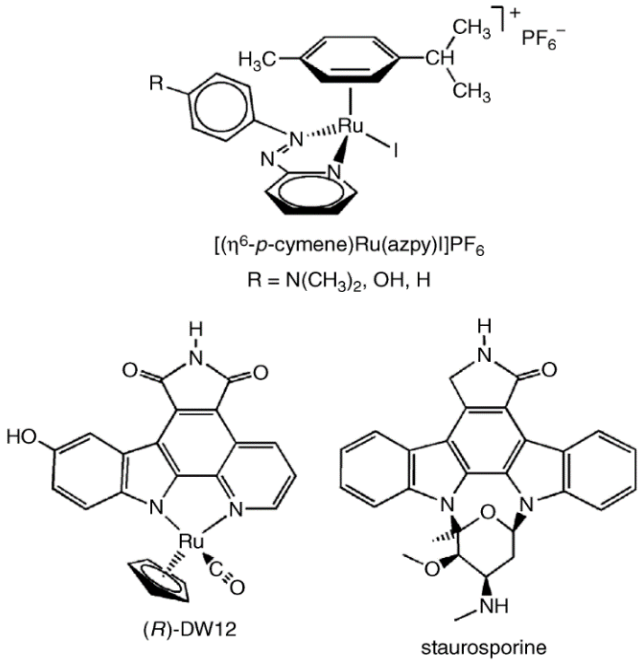


Figura 22. Estructuras de algunos complejos de rutenio activos antitumorales.[25]

cimeno)Ru(azpy)I]PF_6 elimina células cancerígenas generando ROS a través de un mecanismo catalítico que involucra a los aductos de este complejo con el glutatión, GSH. Otro compuesto, DW12 (ver ***figura 23***), que contiene Ru^{2+} cinéticamente inerte, expresa sus propiedades anticancerígenas imitando la forma de un producto natural, la estaurosporina, que estimula la producción de la fosfoproteína p53.[25]



F*igura 23*. Estructuras de compuestos de rutenio activos antitumorales. Se muestra una de las formas ópticamente activas, *R*-DW12.[25]

3.2.2 NAMI-A y KP1019

En la década de los ochenta, estudios sobre la química de los compuestos Ru-cloro-dmso, realizados por Alessio *et al*, condujeron al desarrollo del complejo de Ru (III), [ImH]*trans*-[$RuCl_4$(Im)(κ-S-dmso)], ampliamente conocido como NAMI-A (Im = imidazol). NAMI-A pronto se convirtió en uno de los compuestos de Ru más estudiados y fue el primer complejo de este metal introducido en ensayos clínicos como fármaco antimetastásico. Al mismo tiempo, el grupo de Keppler[31] demostró que los complejos isoestructurales de Ru (III) de la fórmula general [LH]*trans*-[$RuCl_4L_2$] (L = N-heterociclo) eran activos contra varias líneas tumorales. El complejo [IndH]*trans*-[$RuCl_4(Ind)_2$)] (KP1019, Ind = indazol) mostró una prometedora actividad anticancerígena, en particular contra tumores colorrectales resistentes al platino.

El descubrimiento de estos dos compuestos, NAMI-A y KP1019, fue el primer gran avance en el campo de los candidatos a fármacos antitumorales basados en rutenio.[28]

3.2.2.1 Síntesis y propiedades biológicas de NAMI-A

Como se muestra en la ***figura 24***, NAMI-A se prepara haciendo reaccionar el complejo octaédrico $[RuCl_3(H_2O)_3]$ con HCl y dimetilsulfóxido (dmso) en etanol para dar un complejo hexacoordinado.

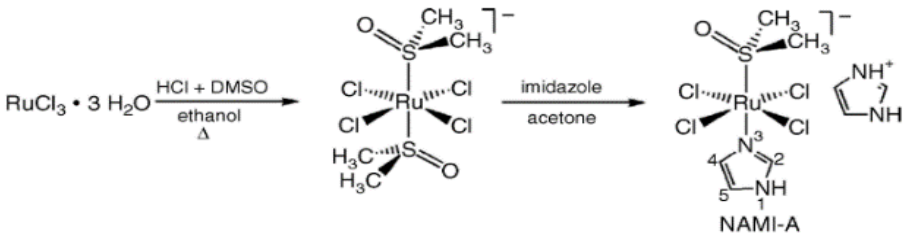


Figura 24. Síntesis de NAMI-A

El hecho de que NAMI-A se hidrolice relativamente rápido en condiciones fisiológicas sugiere que el compuesto podría reaccionar con sustancias disueltas en la sangre, como la albúmina, el glutatión o en el interior del citosol celular. Sin embargo, en lo que se conoce como la hipótesis de la activación por reducción, Clarke *et al*[32,33], sugirieron que la actividad biológica de los compuestos Ru^{3+} está relacionada con su capacidad de bioreducirse a Ru (II), lo que puede ocurrir en el ambiente hipóxico de los tumores, produciendo productos con una cinética de intercambio de ligandos más rápida que las observadas para el Ru (III) y que son adecuadas para sus reacciones con blancos biológicos en la célula. En este sentido, NAMI-A podría considerarse un profármaco, como los complejos de Pt (IV) (como el caso del satraplatino) que se activa por sustancias reductoras en el interior de la célula produciendo especies más reactivas.[25]

Estudios cinéticos revelaron que la constante de velocidad de segundo orden para la reducción por ácido ascórbico de NAMI-A a su complejo de Ru^{2+} a pH 5 a 35°C es 47 ±1,8 M^{-1} s^{-1}, siguiendo ésta un mecanismo de esfera externa. En este tipo de mecanismo, la molécula de ácido ascórbico intercambia un elextrones con uno de los ligandos de NAMI-A y éste a su vez lo transfiere el electrón al Ru (III). Se ha señalado que la cinética de la reacción se ve afectada por la presencia de un exceso de iones de cloruro en el medio y se ha sugerido que la forma reducida de NAMI-A puede tener un papel catalítico en la reacción.[25]

3.2.2.2 Ensayos clínicos con NAMI-A

Los resultados de los ensayos clínicos de fase I con NAMI-A muestran que el compuesto es relativamente no tóxico en dosis de hasta 500 $mg \cdot m^{-2} \cdot día^{-1}$. Sin embargo, a dosis más altas causan ampollas en las manos y pies de pacientes con tumores sólidos. Este rango de dosis es mucho más alto que el del cisplatino, para el cual las dosis están en el rango de 20-140 $mg \cdot m^{-2} \cdot día^{-1}$. En los ensayos clínicos de fase I con NAMI-A, el agente generalmente se administraba por infusión intravenosa durante un período de 3 horas en una solución salina normal (NaCl ≈ 150 mM a pH≈4).[25]

3.2.2.3 Interacción de NAMI-A con posibles blancos biológicos

Si bien se sabe poco sobre el mecanismo molecular por el cual NAMI-A ejerce sus efectos antimetastásicos, varios estudios se han centrado en la unión del agente a la albúmina de suero humano, la apo-*transferrina* y al ADN. El consenso general es que NAMI-A se une a sitios de imidazol expuestos (restos de histidina) tanto en la albúmina como en la apo-*transferrina*. Sin embargo, puesto que el fármaco interactúa débilmente con el ADN y sus bases, éste puede no ser la diana última del agente en la célula.

Al intentar comprender qué le sucede a NAMI-A cuando se introduce en la sangre, Brindell *et al*[34], se centraron en la reducción del compuesto por el ácido ascórbico, que se encuentra en la sangre, y la interacción de los productos de reducción con la albúmina sérica humana, HSA, la proteína más abundante (con una concentración de ≈600 mM) en la sangre. En condiciones similares a las que se encuentran en la sangre, NAMI-A reducido, con su cinética de intercambio más rápida, es la forma del agente que interactúa principalmente con la HSA. Sin embargo, los investigadores señalan que NAMI-A es inestable a pH 7,4 pues puede sufrir hidrólisis, que lleva a acuo complejos de Ru (III) que también se unen a HSA. La reacción de NAMI-A reducido con HSA conduce a la formación de aductos estables, con enlaces muy similares a las del aducto NAMI-A(Ru^{3+})-HSA (NAMI-A [Ru^{2+}] = 3,2 ±0,3 mol/mol de HSA frente a NAMI-A[Ru^{3+}] = 4,0 ± 0,4 mol/mol de HSA). La velocidad de reacción del compuesto reducido con la proteína es mucho mayor que la del NAMI-A[Ru^{3+}].[25]

3.2.2.4 Síntesis y propiedades biológicas de KP1019

KP1019 o FFC14A, que fue sintetizado por Keppler *et al*[25], se encuentra

actualmente en ensayos clínicos de fase I para posibles tratamientos del carcinoma de colon y otros tipos de cáncer. Como se muestra en la ***figura 25***, el complejo se prepara disolviendo $[RuCl_3(H_2O)_3]$ en una mezcla etanol-HCl a reflujo, tratando la solución con un exceso de indazol, obteniendo el complejo *trans*, rojo-marrón, como una sal de indazolio.

La reacción de hidrólisis de KP1019 en agua, en diversas condiciones amortiguadoras, se ha medido utilizando electroforesis capilar de alto rendimiento, una técnica analítica sensible que separa las moléculas en función de su carga y tamaño. La tasa de hi-

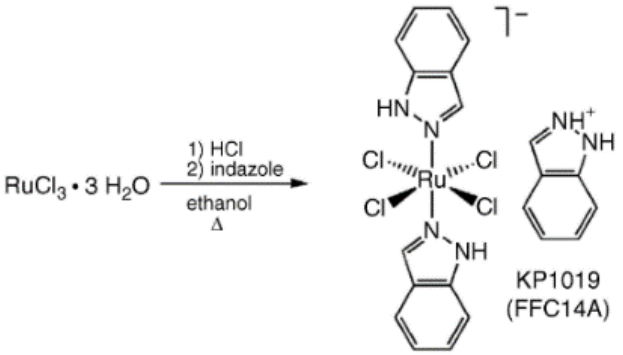


Figura 25. Síntesis de KP1019[25]

drólisis de KP1019 aumenta con el pH del medio en un tampón de fosfato 5 mM, con pseudo constantes de velocidad de primer orden (a 37 °C, a pH 6,0 de $3,4 \pm 0,2 \cdot 10^{-5}\ s^{-1}$ y a pH 7,0 de $51,5 \pm 1,6 \cdot 10^{-5} \cdot s^{-1}$).

El compuesto es reducido por el glutatión, GSH, que se encuentra principalmente dentro de la célula, y aún más rápidamente por el ácido ascórbico, que se encuentra en la sangre. Como ocurre con NAMI-A, la reducción de KP1019 por ácido ascórbico lleva a un compuesto de Ru^{2+} poco después de su administración. Estos productos de reducción circulan en la sangre y reaccionan con las proteínas.[25]

3.2.2.5 Ensayos clínicos con KP1019

En los ensayos clínicos en fase I con KP1019, los pacientes que recibieron dosis del compuesto en el rango de 25-600 mg dos veces por semana durante tres semanas, no mostraron efectos secundarios notables del agente. La mayor parte del Ru que se administró estaba unido a proteínas de la sangre y la vida media final observada fue bastante larga, $t_{1/2}$=69–284 horas. [25]

3.2.2.6 Interacción de KP1019 con posibles blancos biológicos

El enfoque principal en la interacción de KP1019 con dianas potenciales en el cuerpo se basa en su reacción con proteínas del plasma sanguíneo, especialmente con la proteína de transporte de hierro *transferrina* (Tf). Dado que las células tumorales tienen una mayor cantidad de receptores de *transferrina* (TfRs) en su superficie que sus células normales, el incorporar Tf con un ion metálico que no puede realizar las mismas funciones biológicas que el hierro puede ser un medio para administrar esos iones metálicos "extraños" a una célula cancerosa y eliminándola selectivamente.

Kratz *et al*[35], estudiaron la unión de KP1019 a la apo-transferrina (apo-Tf), utilizando espectroscopía UV-visible, dicroísmo circular, CD y espectroscopía de RMN. Los estudios se realizaron en disoluciones tampón que contenían NaH_2PO_4 (4 mM), NaCl (100 mM) y $NaHCO_3$ (25 mM) a pH 7,4, que simulan las condiciones encontradas en la sangre. Los investigadores determinaron que KP1019 se une a apo-Tf, en cuestión de minutos, requiriéndose la presencia de ion carbonato. La apo-Tf se une a dos complejos KP1019. El espectro de absorción del KP1019 unido a la proteína (***Figura 26a***) exhibe una banda a aproximadamente 585 nm que, a pesar de que presenta una extinción molar alta ($\varepsilon \approx 1000\ M^{-1}\cdot cm^{-1}$) se asignó a una transición *d-d* del Ru (III). Este aducto KP1019-Tf también exhibe otras absorciones mal definidas en la región 340-550 nm, que parecen ser transiciones *d-d* y/o transiciones de transferencia de carga (LMCT) asociadas con el ligando de indazol que permanece unido al ion rutenio en el complejo proteico. Las absorciones debidas a la propia apo-Tf, que son principalmente de las cadenas laterales de los aminoácidos triptófano, tirosina y fenilalanina, están más lejos en la región

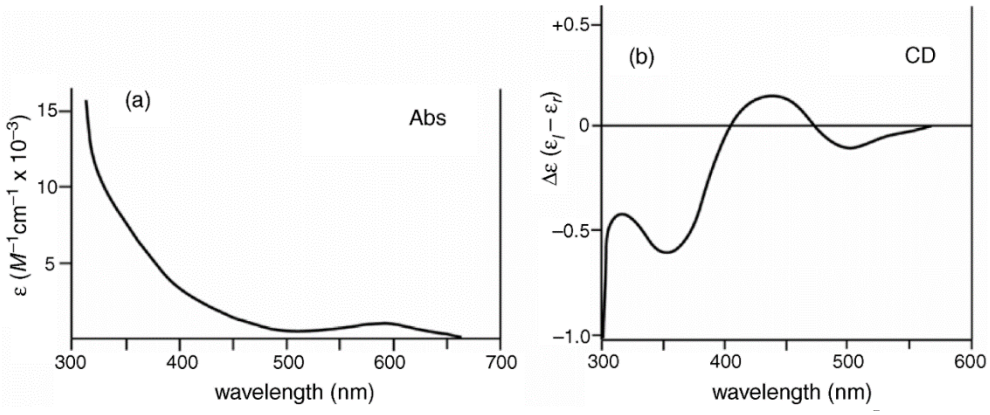


Figura 26. (a) Espectro de absorción UV-visible de KP1019 más apo-*transferrina* (ambos $5\cdot10^{-5}$ M) después de 20 minutos y (b) espectro de dicroísmo circular (CD) de KP1019 más apo-*transferrina* (ambos $1\cdot10^{-4}$ M) en una disolución tampón que contiene 4 mM NaH_2PO_4, 100 mM NaCl y 25 mM $NaHCO_3$ (pH 7´4).[25]

ultravioleta a aproximadamente 280 nm y no se solapan con las absorciones debidas al complejo metálico.

Mientras que KP1019 en sí mismo no es ópticamente activo, cuando el complejo está unido a apo-Tf, las transiciones electrónicas asociadas con el complejo metálico exhiben actividad óptica inducida. Esto se debe a que el complejo está unido en un entorno localizado de proteínas que es quiral y las transiciones electrónicas en el complejo "detectan" la naturaleza quiral de ese entorno y exhibiendo efectos de CD. Como se muestra en la ***Figura 26b***, las absorciones UV-visible asociadas con el sistema KP1019 más apo-*transferrina*, exhiben bandas CD negativas a ≈330 y ≈505 nm y una banda CD positiva a ≈435 nm. A partir de estos datos, los investigadores pudieron determinar que la apo-Tf se une con dos moléculas KP1019 y que las firmas de CD para cada uno de los complejos unidos son las mismas, lo que sugiere que el KP1019 ocupa los sitios de unión de hierro de apo-Tf. [25] Para demostrar que los sitios de unión de hierro de la *transferrina* estaban involucrados en la unión de KP1019, los investigadores cargaron apo-Tf con Al (III), que debido a que tiene la misma carga y casi el mismo radio iónico que el Fe (III), ocupa el sitio del hierro en la *transferrina*. Cuando Al_2-Tf se trató con dos equivalentes de KP1019, no se produjo unión de rutenio, lo que sugiere, sin lugar a duda, que el complejo de rutenio se une fuertemente al sitio de hierro de la *transferrina*. [25]

También se ha estudiado la unión de KP1019 a la albúmina sérica humana, HSA, la proteína más abundante en la sangre. Los estudios de dicroísmo circular muestran que la unión del compuesto de rutenio a HSA causa la pérdida de parte de la estructura helicoidal de la proteína, y dado que la fluorescencia de un residuo de triptófano en la posición 214 de la proteína se reduce cuando KP1019 se une la misma, se sospecha que los grupos imidazol de los residuos de histidina cercanos a ese triptófano 214, las histidinas 242 o 246, son los ligandos que interactúan con el ion rutenio. Aunque la velocidad de reacción de KP1019 con HSA es mucho menor que la velocidad de reacción con la *transferrina*, la gran cantidad de la primera proteína en la sangre unido al hecho de que la constante de unión entre ella y el compuesto de rutenio es más alta que la misma constante para la *transferrina* (para la albúmina sérica, K_{HSA} = 9910 M^{-1}; para la *transferrina*, K_{Tf} = 6460 M^{-1}) sugiere que HSA puede ser un reservorio y portador de buena parte del KP1019 administrado y, por lo tanto, puede mediar en la acumulación en tumores.[25]

3.2.3 Complejos de rutenio (II) (η^6-areno)

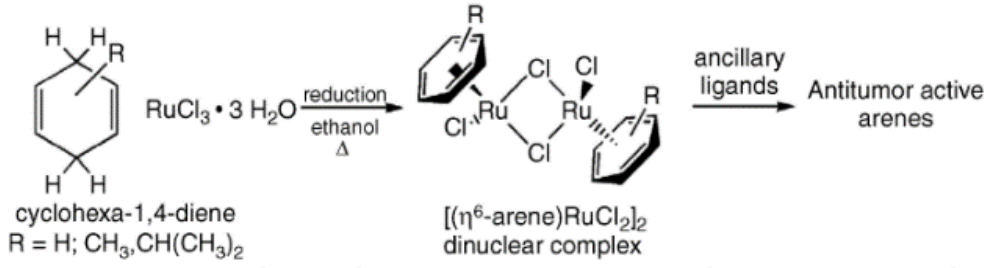


Figura 27. Síntesis de Complejos de rutenio (II) (η^6-areno)

Además de NAMI-A y KP1019, se está investigando un gran número de compuestos organometálicos de rutenio, denominados compuestos de areno, también muestran propiedades anticancerígenas. Estos complejos, a veces denominados compuestos "medio sándwich", se pueden sintetizar por reacción de una molécula precursora no aromática como el ciclohexa-1,4-dieno o uno de sus derivados sustituidos con el $[RuCl_3(H_2O)_3]$ en etanol, dando lugar a unidades diméricas del tipo $[(\eta^6\text{-areno})RuCl_2]$ conectadas por dos puentes de cloro (ver ***figura 27***).

Se cree que la activación de estos complejos requiere la disociación del ligando haluro, lo que permite la formación de un metabolito $Ru\text{-}OH_2$. El metabolito se une preferentemente a los residuos de guanina del ADN, a través de su coordinación al N7. Tanto en $[Ru(\eta^6\text{-areno})(en)(nucleobase)]^{2+}$ como en $[Ru(\eta^6\text{-areno})(en)(nucleósido)]^{2+}$, se estudiaron sus estructuras por cristalografía de rayos X. De acuerdo con las evidencias de esos estudios, el enlace de coordinación principal Ru-N7 (guanina) se estabiliza adicionalmente por un enlace de hidrógeno estereoespecífico entre el carbonilo O6 de guanina y el NH del ligando etilendiamina. El estudio ha demostrado una interacción de apilamiento de *tipo π-π stacking* entre el ligando aromático y la nucleobase.[28]

3.2.3.1 Complejos tipo RAPTA

Otro grupo de compuestos Ru (II) de medio sándwich que muestran interesantes propiedades anticancerígenas son los complejos de tipo RAPTA de fórmula general $[Ru(\eta^6\text{-areno})(pta)Cl_2]$, que se caracterizan por la presencia del ligando fosfano pta (ver ***figura 28***). Los complejos tienden a disolverse bien en soluciones acuosas debido al carácter altamente hidrofílico del ligando pta. De manera similar a NAMI-A, los compuestos RAPTA ejercen una actividad antimetastásica en paralelo con una actividad citotóxica moderada. Este hecho es sorprendente considerando las diferencias entre ambos

complejos en términos de estado de oxidación del metal, carga, tipo de ligandos y geometría de coordinación.

Se cree que la activación *in vivo* de los compuestos RAPTA ocurre a través de la hidrólisis de sus ligandos cloro. Aunque se ha observado la pérdida del ligando areno en algunos complejos de RAPTA, este hecho sobre la actividad de los compuestos no se confirmó. Se cree que la actividad de los compuestos RAPTA se origina, de manera similar a NAMI-A, a partir de su capacidad de interactuar con ciertas proteínas en lugar de con el ADN de forma directa.

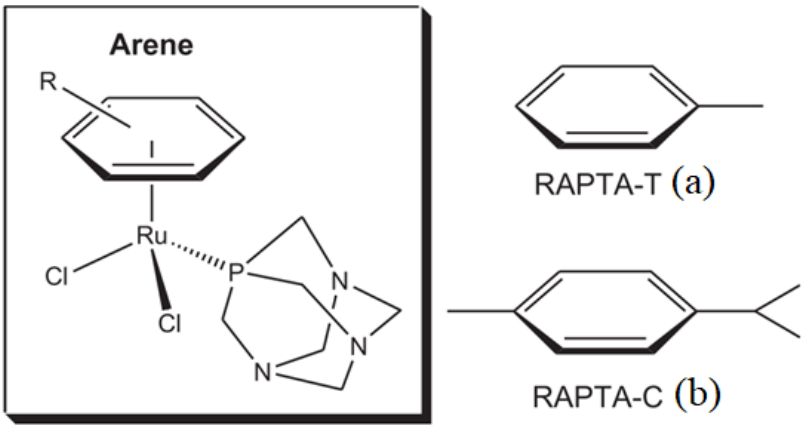


Figura 28. Complejos RAPTA representativos, con la fórmula general [Ru(η^6-areno)(pta)Cl_2], donde *η^6-areno* es tolueno (a) o *p*-cimeno (b)[28]

3.2.3.2 Complejos de coordinación Ru (II) de tipo medio sándwich

Los resultados alentadores obtenidos para los areno complejos de Ru (II) llevaron a Alessio y colaboradores a comenzar un estudio de relaciones estructura-actividad

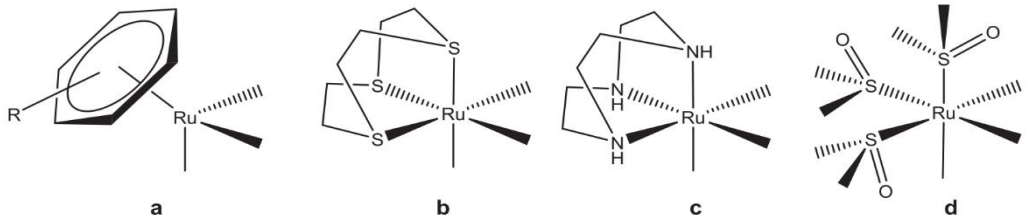


Figura 29. Representación esquemática de compuestos organometálicos y de coordinación de medio sándwich que contienen diferentes fragmentos de recubrimiento de cara: a) η^6-areno, b) [9]aneS3, c) [9]aneN3 y d) {*fac*-Ru(dmso-S)3}[28]

(SAR), teniendo en cuenta si el ligando η^6-areno, era una característica clave para su actividad anticancerígena. También pretendían probar si el ligando η^6-areno podría reemplazarse de manera efectiva por otro ligando neutro (que denominaremos facl por *fac ligand*) de 6 electrones con una baja demanda estérica, situado en una de las caras de octaedro de coordinación, dejando inalterados los otros ligandos (ver ***figura 29***). En este

contexto, se desarrollaron una serie de compuestos de coordinación de Ru (II) de *tipo* medio sándwich con fórmula general $[Ru(facl)(chel)X][Y]_n$, en el que el facl es 1,4,7-tritiociclononano ([9]aneS3) o 1,4,7-triazaciclononano ([9]aneN3). El quelante chel es un ligando neutro o aniónico NN, por ejemplo, el 1,2-diaminociclohexano (dach), bpy o bpy sustituido, triazoles sustituidos; picolinato (pic), oxalato, malonato, acac, quinolonas, etc. Por otra parte los ligando monodentados (X) utilizados son Cl o κS-dmso y CF_3SO_3, PF_6, Cl como lagandos Y.[28]

3.2.3.3 Complejos heteronucleares de rutenio

La comunidad de los químicos inorgánicos dedicados al diseño de fármacos ha estado particularmente interesada en los derivados de ferrocenilo que poseen uno o más heteroátomos, y que pueden emplearse para coordinar metales de transición. El atractivo biológico de los metalocomplejos a base de ferroceno radica en propiedades tales como: buena estabilidad acuosa y al aire, eficiencia de transporte a través de las membranas celulares, potenciales redox y la facilidad a la hora de ser modificados químicamente. Un ejemplo de complejos heteronucleares que contienen fragmentos de Ru(II)-areno unidos a derivados de piridil-ferroceno lo tenemos en la ***figura 30***.

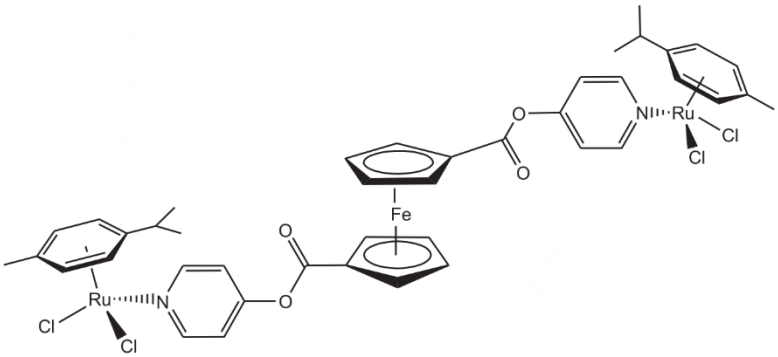


Figura 30. Complejo heteronuclear que contiene dos fragmentos de rutenio-cym conectados a través de un resto de ferroceno[28]

Tauchman *et al*[36,37]. han sintetizado varias series de complejos heterodinuclares de rutenio-hierro (a-c en la ***figura 31***), a partir de dímeros de dicloruro de rutenio (η^6-areno) y ligandos de fosfonoferroceno con sustituyentes carboxamido a base de glicina. Los complejos mostraron actividades anticancerígenas de moderadas a buenas frente a líneas celulares de cáncer de ovario humano A2870 y A2870cisR (resistente a cisplatino). El complejo más activo de la serie, **c**, (arene = C_6H_6) tenía valores de IC_{50} de 4.1 μM y 6.9

μM para A2780 y A2780cisR, respectivamente.[28]

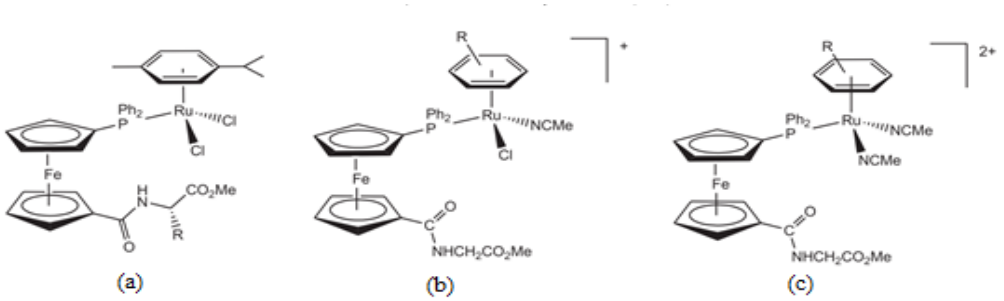


Figura 31. Complejos de areno de rutenio-hierro heterodinucleares representativos con ligandos de fosfinoferroceno que contienen sustituyentes de carboxamido a base de glicina[28]

3.2.4 Compuestos de Ru(II) como inhibidores de proteína quinasa

El descubrimiento de inhibidores selectivos de enzimas representa una actividad importante de la química medicinal y la química biológica. Las proteínas *quinasas* desempeñan un papel vital en la biología celular porque regulan la mayoría de los procesos celulares y son uno de los principales blancos oncológicos de muchos fármacos. Los

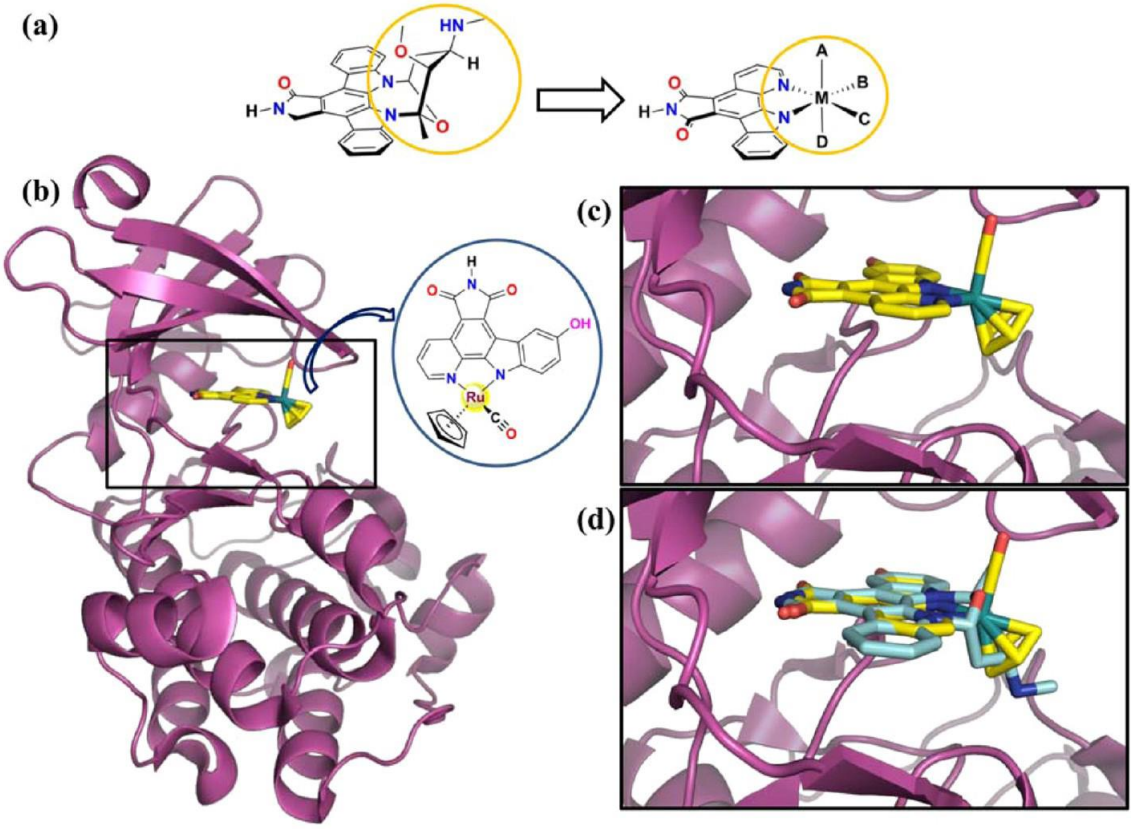


Figura 32. Inhibidores de la proteína quinasa basados en de rutenio (II) competitivos con los sitios de ATP. (a) Mimetismo de forma: estructura de estaurosporina. (b) Estructura de cocristales del complejo de medio sándwich de rutenio pseudo-octaédrico con proteína quinasa Pim-1 (color amarillo, código PDB 2BZI). (c) Ampliación de la estructura de cocristal del complejo de medio sándwich de rutenio pseudo-octaédrico con proteína quinasa Pim-1 (color amarillo, código PDB 2BZI). (d) La estructura de cocristal superpuesta de Pim-1 (código PDB 2BZI) con estaurosporina (color azul, código PDB 1YHS) revela la estrecha coincidencia en el modo de unión entre el compuesto organometálico y el producto natural.

inhibidores de la *quinasa* son de los más utilizados en el tratamiento de numerosas formas de cáncer. Hay más de 518 proteínas quinasas codificadas por el genoma humano, y muchas de ellas están asociadas con cánceres. El diseño y descubrimiento de nuevos compuestos que perturban o afectan a funciones proteicas específicas es importante en la investigación que lleva al diseño de fármacos potentes y seguros.

Muchos químicos dedicados al diseño de fármacos ya han estudiado a estas quinasas y han descubierto nuevos compuestos, algunos de los cuales ya están aprobados por la FDA. Se ha informado que los agentes terapéuticos basado en el Ru(II) como, el DW1/2 y el NP309 son inhibidores de la proteína quinasa, lo que sugiere que estos compuestos actúan sobre los inhibidores de medio sándwich GSK3 y Pim1.

Los primeros informes de compuestos de rutenio (II) muy estables y conformacionalmente rígidos que contienen fragmento parecidos a la estaurosporina (producto natural aislado originalmente en 1977 de la bacteria *Streptomyces staurosporeus*, cuya principal actividad biológica es la inhibición de las proteínas quinasas[38]). El compuesto principal de Ru(II) que contiene este fragmento de estaurosporina (alcaloide indocarbazol) ha mostrado capacidad inhibitoria de la proteína quinasa competitiva ATP a nivel subnanomolar (ver ***figura 32a***). Estos resultados sugirieren que el Ru(II) enlazando un ligando de estaurosporina da lugar a un complejo que se une al sitio de unión ATP de Pim-1 (ver ***figura 32b***). El estudio estructural por difracción de rayos X del compuesto de rutenio de la estaurosporina cocristalizado con Pim-1 describe un compuesto de Ru(II) que imita el modo de unión de la estaurosporina (ver ***figura 32c*** y ***figura 32d***). Estos compuestos dirigidos de Ru (II) como inhibidores de la proteína quinasa representan un avance importante en la oncoterapia.[27]

3.3 Oro

La conexión entre el cáncer y la artritis se hizo hace años cuando se descubrió que los algunos medicamentos contra el cáncer como la 6-mercaptopurina y ciclofosfamida tienen propiedades inmunosupresoras y antiinflamatorias, que son los mismos efectos que muestran los agentes antiartríticos. También se supo que los pacientes en crisoterapia tenían una incidencia estadísticamente menor de cáncer, lo que sugiere que los agentes utilizados para tratar RA (acrónimo inglés de la *artritis reumatoide*) en realidad pueden ser útiles para tratar el cáncer. Esta conexión entre las dos enfermedades, y el éxito de los medicamentos de platino, estimuló una considerable investigación sobre los compuestos

de oro para el tratamiento del cáncer, de los cuales se presentará un breve resumen en esta sección.[39]

Desde la antigüedad, el oro y sus complejos se han utilizado como agentes terapéuticos contra diferentes enfermedades. En la medicina moderna, se han aplicado medicamentos de oro para el tratamiento de la artritis reumatoide, sin embargo, recientemente, otras aplicaciones médicas se han centrado en la química medicinal inorgánica para el tratamiento de otras patologías. [40]

En 1972, Sutton y colaboradores informaron acerca de las propiedades antiinflamatorias de los complejos de oro administrables por vía oral y de estos estudios surgió el compuesto de oro, *auranofina*, que hoy en día se considera el compuesto principal de los metalofármacos de oro.

Para la auranofina y muchos otros complejos de oro también se han reportado fuertes efectos contra las células cancerosas. Estos hallazgos han desencadenado grandes esfuerzos en la comunidad de químicos inorgánicos dedicados al diseño de fármacos para desarrollar nuevos medicamentos a base de oro contra el cáncer. Aunque hasta ahora no ha llegado al mercado de las drogas un nuevo metalofármaco de oro, se ha establecido un rico conocimiento sobre la química medicinal de tales complejos. Los ensayos clínicos actuales con algunos de los medicamentos de oro existentes enfatizan la viabilidad del enfoque en el diseño de medicamentos.

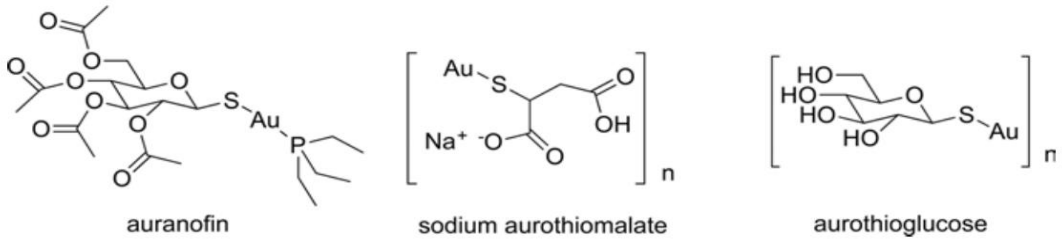


Figura 33. Ejemplos de drogas de oro. El tiomalato de sodio y la aurotioglucosa son compuestos poliméricos.

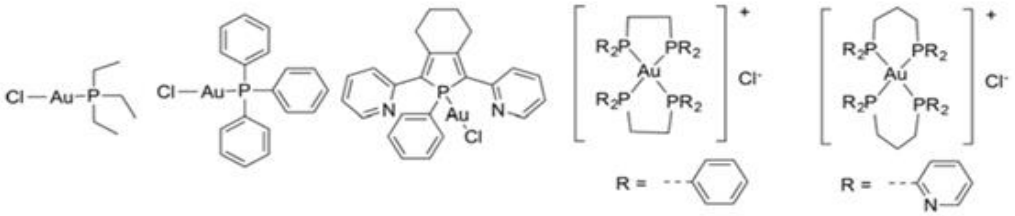
Se han aplicado varios complejos de oro para tratar la artritis reumatoide, los más utilizados son los representados en la ***figura 33***.

3.3.1 Complejos de oro (I) anticancerígenos

A partir de complejos de Au (I), se han realizado esfuerzos sustanciales en el desarrollo de agentes anticancerígenos a base de oro. Se revisarán los complejos de Au (I) fosfano y los organometálicos de Au (I), como tipos relevantes que contienen al oro en el estado de oxidación 1+.

3.3.1.1 Complejos de Fosfano de oro(I)

El compuesto principal auranofina representa un fosfano complejo de oro neutro, lineal, dicoordinado y con un ligando de tioglucosa. Los fosfanos son buenos ligandos



(a) (b) (c) (d) (e)

Figura 34. Ejemplos de complejos anticancerígenos de oro (I) fosfano[40]

donantes y, como tales, se unen fácilmente al Au (I). El desarrollo exitoso y la eficacia terapéutica de la auranofina fueron probablemente los factores decisivos que incentivado los estudios en el desarrollo de metalofármacos basados en una estructura parcial de oro(I)(fosfano). Un estudio de la relación estructura-actividad realizado por Mirabelli y sus compañeros de trabajo en una serie de 63 complejos del tipo general L-Au-X destacó la importancia de las estructuras parciales de fosfano y tiosugar tanto *in vitro* como *in vivo*. [40]

Los complejos como ClAu(I)(trietilfosfano), ***figura 34a***, o ClAu(I) (trifenilfosfano), ***figura 34b***, han demostrado poseer características clave similares a las de la auranofina, que incluyen citotoxicidad fuerte, actividad antimitocondrial o inhibición de la tiorredoxina reductasa. Los complejos con el resto trifenilfosfano mostraron una mayor absorción celular en las células cancerosas en comparación con los análogos de trialquilo. [40]El complejo GoPI (***figura 34b***) es un inhibidor altamente eficiente tanto del glutatión reductasa como de la tiorredoxina reductasa (TrxR). Estudios cristalográficos de rayos X revelaron que la glutatión reductasa expuesto a GoPI, reemplazó algunos ligandos por residuos de cisteína del enzima. Los fosfanos bisquelantes (***figura 34d***) dan lugar a complejos catiónicos con el Au (I) lipofílicos, que tienen una larga historia en la investigación de fármacos contra el cáncer. Para (d) y complejos relacionados, la lipofilia es un factor crucial que afecta la absorción celular, la unión a las proteínas plasmáticas y la toxicidad *in vivo*. La mayor estabilidad cinética de los complejos con fosfanos

bisquelantes es una ventaja importante. Curiosamente, para este tipo complejos, la presencia de los grupos fenilo en el fósforo es de gran relevancia, y la actividad biológica se redujo o perdió con el reemplazo con residuos de alquilo. El carácter catiónico lipofílico de los complejos de bisquelato de fosfano Au (I) puede causar una acumulación dentro de las mitocondrias como consecuencia del mayor potencial de membrana de estos orgánulos. Sin embargo, la acumulación inespecífica en las mitocondrias también podría haber causado los efectos tóxicos que impidieron el mayor desarrollo del compuesto (d). [40] Ese problema se resuelve mediante una optimización estructural adicional que llevó al compuesto **e** (***figura 34***), que se informó que es selectivamente tóxico en las células de cáncer de mama e inhibió efectivamente la actividad de la TrxR.

En conclusión, los fosfanos complejos de oro(I) representan importantes restos anticancerígenos.[40]

3.3.1.2 Complejos organometálicos de oro(I)

En los últimos años, los complejos organometálicos de oro han atraído una gran atención. El motivo es por la mayor estabilidad del enlace metal-carbono de estos compuestos que se puede lograr, por ejemplo, mediante el uso de carbeno N-heterocíclico (NHC) o ligandos de alquinilo. Los NHC son ligandos donantes σ fuertes que pueden coordinarse de manera estable con varios metales de transición, incluido el oro. En los

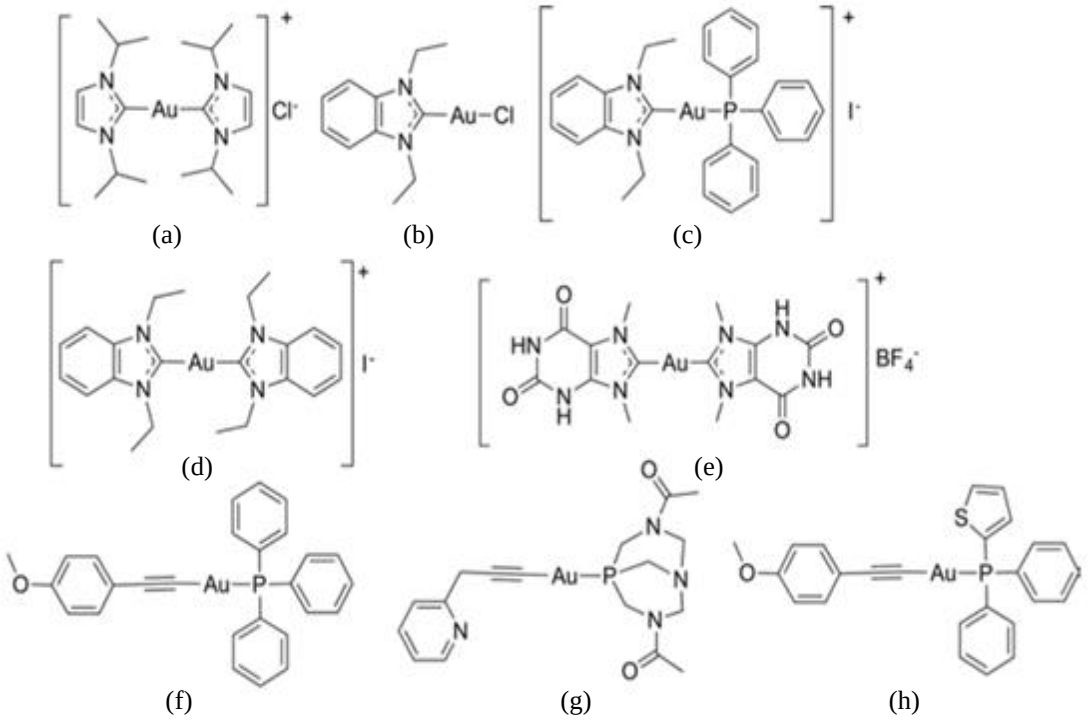


Figura 35. Ejemplos de complejos organometálicos de oro(I) con propiedades anticancerígenas

estudios de Berner-Price *et al*[41], se describieron complejos lineales catiónicos con dos ligandos NHC (complejos de biscarbenos), como el complejo **a**, ver ***figura 35***, capaces de desencadenar fuertes efectos antimitocondriales y dirigirse a los selenoles de proteínas en lugar de tioles. Es importante destacar que el complejo **a** fue capaz de inhibir la actividad de TrxR en las células, mientras que no se observó inhibición del glutatión reductasa. Tanto la inhibición de TrxR como los efectos antimitocondriales, se han observado para muchos complejos de Au (I)-NHC.

Ott et al[42], prepararon cloro complejos de Au (I)-NHC con un ligando de NHC derivado de bencimidazol (ver ***figura 35b***). En estos compuestos, el ligando secundario de cloro debería ser fácilmente reemplazable por grupos tiol o selenol en el sitio activo de TrxR, esto permitiría el diseño de inhibidores muy eficientes.[40]

Los complejos **c** y **d** representan derivados de **a** (ver ***figura 35***), en los que el ligando cloruro es reemplazado por trifenilfosfano o un segundo ligando de NHC, respectivamente, lo que condujo a especies catiónicas. Las energías de disociación de enlace calculadas indicaron una menor reactividad de los complejos catiónicos, y de hecho se comportan inhibidores de TrxR menos activos. Sin embargo, la captación celular y el tráfico hacia las mitocondrias aumentaron para los catiónicos **c** y **d** y esto resultó en una citotoxicidad general más alta. Además de la inhibición de TrxR y los efectos antimitocondriales, también se informó que otras vías celulares son de gran importancia para la actividad biológica de los complejos de Au (I)-NHC. Casini et al[43,44], reportaron otro complejo catiónico muy interanse, el biscarbeno **e**, ver ***figura 35***. El complejo **e** contiene dos ligandos de NHC derivados de cafeína y se encontró que era un agente estabilizador de cuadruplete de guanina eficiente y selectivo. Es importante destacar que **e** se une de forma no covalente a tres sitios de unión distintos de una estructura G-cuadruplete.

La preferencia del Au (I) por una geometría lineal junto con la linealidad de los alquinos, asociada a su debido a su naturaleza π-insaturada, han hecho que los complejos de alquinilo de Au (I) sean especies organometálicas útiles con posibles aplicaciones en la química de materiales, química supramolecular. Ott et al[45], reportó que el complejo **f**, ***figura 35***, es uno de los inhibidores de TrxR más activos de una serie de complejos citotóxicos de Au (I) trifenilfosfano con ligandos alquinilo de estructuras variadas. La administración de **f** *in vivo* fue problemática debido a su solubilidad, requiriendo el desarrollo de una formulación adecuada y hasta ahora no ha proporcionado reducción del crecimiento tumoral. La optimización estructural adicional de **f** se centró en una optimización

de los ligandos de fosfano y condujo a su anaólogo de trietilfosfano como una alternativa mejor para estudios *in vivo*.

En este contexto, el derivado de propargiltiol **g**, ver ***figura 35***, con un ligando de fosfano que mejora la solubilidad representa un desarrollo muy interesante. El complejo condujo a un aumento en el tiempo medio de supervivencia y la esperanza de vida en un modelo de xenoinjerto en ratones desnudos atímicos. La reducción del crecimiento tumoral fue moderada y no hubo toxicidad aguda. Otro ejemplo, que mostró buena actividad in vivo es **h**, ver ***figura 35***. Se identificó que es un inhibidor eficaz de TrxR y mostró resultados muy prometedores *in vivo*.[40]

3.3.2 Complejos de oro (III) anticancerígenos

Debido a la similitud estructural con varios medicamentos anticancerígenos basados en platino (II), los complejos de Au (III) se han considerado durante mucho tiempo como agentes terapéuticos eficaces contra el cáncer. Sin embargo, el ion Au (III) en condiciones fisiológicas se reduce fácilmente Au (I) u Au metálico. Por lo tanto, un desafío importante para su aplicación en la medicina es el problema de la estabilidad redox. Al emplear varios ligandos tetra-, tri- y bidentados, se han identificado en la última década numerosos complejos estables de Au (III) que poseen propiedades anticancerígenas. [40]

3.3.2.1 Complejos de oro (III) con ligandos bidentados

En 2005 se identificaron propiedades anticancerígenas para los ditiocarbamatos de Au (III), lo que ha incentivado la preparación y estudio de diversos derivados. Se ha informado que algunos complejos de ditiocarbamato que contienen aminoácidos u oligopéptidos muestran propiedades prometedoras contra el cáncer. Se desarrollaron varios com-

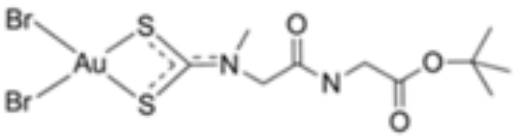


Figura 36.

plejos de péptido-ditiocarbamato de Au (III) como agentes anticancerígenos prometedores contra la neoplasia de mama humana (por ejemplo, el mostrado en la ***figura 36)***. Estos complejos muestran un índice quimioterapéutico mejorado y un espectro terapéutico amplio, y algunos de ellos son altamente activos hacia los xenoinjertos humanos del tipo

MDA-MB-231. Muy recientemente, varios complejos de pirrolidinaditiocarbamato de Au (III) han sido reportados como agentes anticancerígenos prometedores. Se descubrió que el bromo derivado era más efectivo para las células cancerosas que el derivado de cloro en términos de valores de IC_{50}.

Che *et al*[46], han desarrollado varios complejos de Au (III) (ver ***figura 37***) que contienen ligandos de NHC para ser utilizados como eficaces sondas fluorescentes, además de que mostraban prometedoras propiedades anticancerígenas *in vivo*.

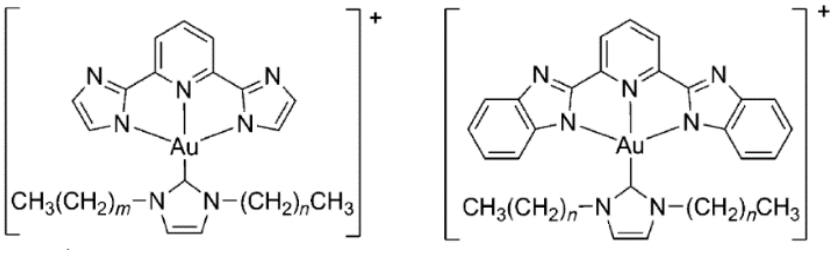


Figura 37.

Se ha sintetizado otra nueva clase de complejos de carbeno de Au (III) que contienen diversos ligandos bidentados del tipo C^N y *cis*-quelantes *cis*- NHC, ***figura 38***. Estos complejos mostraron una inhibición sobre la deubiquitinasa UCHL3 (las deubiquitinasas son un gran grupo de proteasas que separan la ubiquitina de las proteínas. La ubiquitina se une a las proteínas para regular la degradación de las proteínas a través del pro-

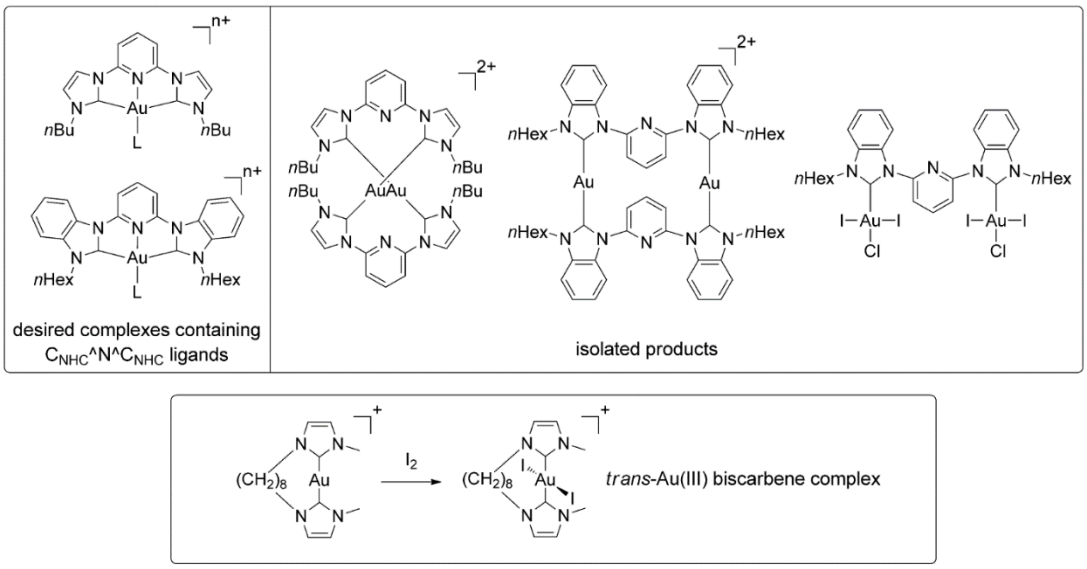


Figura 38. Complejos de Au^{I} y Au^{III} –bis-NHC[64]

teasoma y el lisosoma ; coordinar la localización celular de proteínas; activar e inactivar proteínas; y modulan las interacciones proteína-proteína[47]) con un valor de IC_{50} de 0,15

μM. Se encontró que los complejos de Au (III) con ligandos de ditiocarbamato, $[Au^{III}(C\hat{}N)(R_2NCS_2)]^+$ (donde HC^N = 2-fenilpiridina) muestran una inhibición significativa en las deubiquitinasas, y una alta citotoxicidad selectiva hacia las células de cáncer de mama.

3.3.2.2 Complejos de oro (III) con ligandos tridentados

La 2,2´,2´´-Terpiridina (terpy) es un ligando tridentado típico para estabilizar un centro de metálico altamente oxidante. Lippard *et al*[48], en 1983, reportaron el complejo de Au (III) de terpy **a**, ver ***figura 39***. En el 2000, Messori *et al*[49], demostraron por primera vez sus prometedoras actividades anticancerígenas *in vitro*, exhibiendo un potencial anticancerígena similar al del propio ligando terpy, lo que ha permitido sugerir que su actividad citotóxica está mediada por el ligando.

Las acciones anticancerígenas de varios ciclometalato-complejos de Au (III) $[Au^{III}(C\hat{}N\hat{}C)L]^+$ (en donde HC^N^CH = 2,6-difenilpiridina; L = un ligando auxiliar), ha sido estudiada. Estos complejos, que se muestran en la ***figura 39*** son estables en soluciones acuosas que contienen glutatión. El complejo **b**, ver ***figura 39***, mostró unas potentes actividades anticancerígenas *in vitro*. Con trifenilfosfano como ligando auxiliar, se encontró que $[Au^{III}(C\hat{}N\hat{}C)L]^+$ (complejo **c** de la ***figura 39***) mostraba actividad citotóxica hacia diferentes líneas celulares de cáncer con valores de IC_{50} de hasta ≈4 μM.

Desde 2006, Messori *et al*[50], informaron que varios oxo-complejos binucleares de Au (III), por ejemplo, *Auoxo-6*, (***figura 39d***) eran activos contra el cáncer y muestran una alta selectividad de células cancerosas.

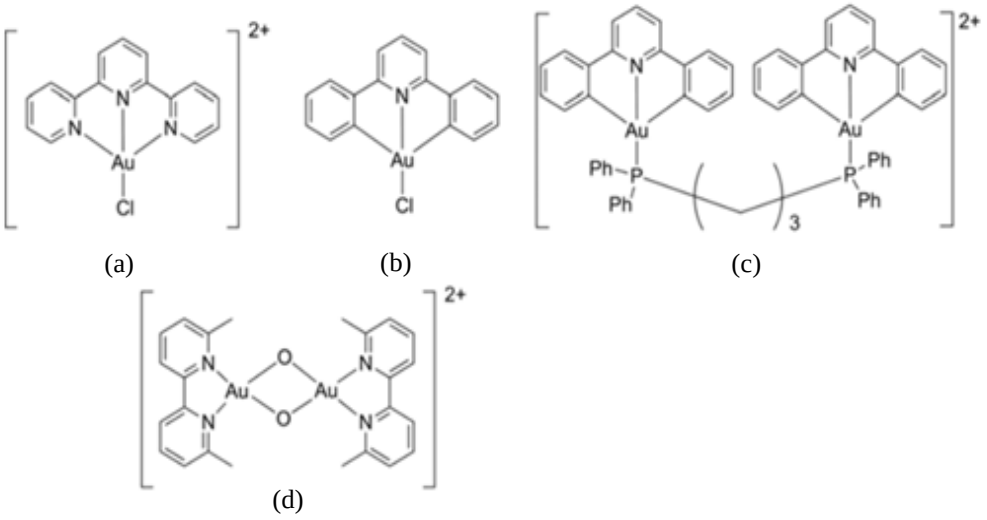


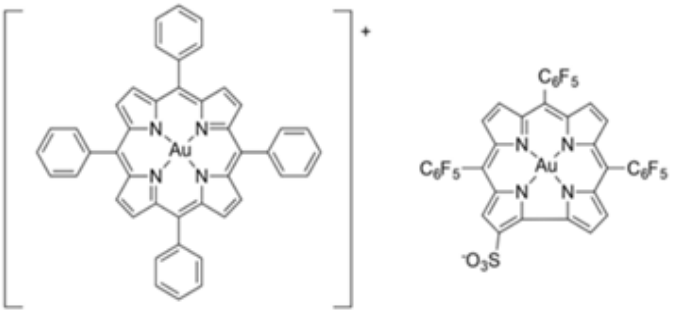
Figura 39.

3.3.2.3 Complejos de oro (III) con ligandos tetradentados

Se pueden preparar complejos de Au (III) estables con ligandos porfirínicos del tipo $[Au^{III}(porfirina)]^{+}$, con una carga catiónica neta, utilizando ligandos de porfirina. En 2003, Che *et al*[51], informaron sobre las propiedades anticancerígenas de un complejo de *meso*-tetrafenilporfirina de Au(III), (***Figura 40a***). Los estudios *in vitro* e *in vivo* revelaron que **a** es altamente eficaz contra la metástasis del carcinoma nasofaríngeo (NPC) e inhibe el crecimiento tumoral cáncer de colon, neuroblastoma, melanoma y cáncer de ovario resistente al cisplatino, implantados en ratones desnudos. Además, en 2013, Che, Sun *et al*[52], demostraron por primera, la capacidad anticancerígena de estos complejos en células madre.

Se determinó que el valor LD_{50} (dosis letal media) de **a** era 6,8 mg/kg (dosis efectiva contra el cáncer: ≈3,0 mg/kg). Para reducir su toxicidad se ham empleado sistemas moleculares que actúan como transportadores. Se han observado actividades anticancerígenas mejoradas de **a** mediante el uso de materiales de encapsulación poliméricos, tales como una mezcla de gelatina, polietilenglicol y un tipo de polímeros supramoleculares de Au (III). Además, se emplearon nanopartículas de sílice mesoporosa para el suministro de **a** con selectividad mejorada y eficacia inductora de apoptosis.

También se han informado otros tipos de complejos anticancerígeno de Au (III) con ligandos tetradentados. Se encontró que un complejo de corrol de Au (III) soluble en agua, (***Figura 40b***) mostraba una actividad citostática prometedora.



(a) (b)

Figura 40.

3.3.3 Interacciones con blancos biológicos

Numerosos esfuerzos de investigación se han dirigido a la comprensión de la actividad citotóxica y el modo de acción relacionado de los complejos de oro (con

propiedades citotóxicas), así como a la identificación de sus "dianas proteicas" preferenciales, ya que es cada vez más evidente que, al contrario que el cisplatino, el ADN no es el objetivo único o principal de los fármacos. De hecho, aunque algunos complejos de Au (I) fosfano fueron documentados para interactuar con ADN o ADN polimerasas, varios estudios posteriores sugirieren, sin lugar a duda, que las mitocondrias y las vías de fosforilación oxidativa son los objetivos intracelulares primarios de estos compuestos. Por ejemplo, se ha informado que la auranofina inhibe las funciones mitocondriales, estimula la liberación de citocromo *c* e induce la apoptosis. En general, desde su descubrimiento como agentes antiproliferativos, varios experimentos en células cancerosas revelaron una variedad de efectos de los compuestos de oro en el metabolismo celular, incluido un alto aumento de la formación de ROS y una reducción de la actividad mitocondrial, que finalmente resultó en la muerte celular apoptótica.

En particular, en el caso de los complejos de Au (I), la mayoría de estos efectos podrían atribuirse a la inhibición fuerte y selectiva de la seleno-enzima TrxR. En el caso de los complejos de Au (III), otras proteínas han emergido como supuestos objetivos farmacológicos, incluidas los “dedos de zinc”, los canales de glicerol (aquaporinas), las proteínas deubiquitinas, el proteasoma, así como otras enzimas relacionadas con el cáncer.[40]

3.3.3.1 Tioredoxina reductasas

Las tioredoxinas reductasas (TrxR) son flavoproteínas homodiméricas encargadas de realizar procesos antioxidantes en el sistema celular. Estas mantienen un ambiente reductor al transmitir el flujo de electrones desde el NADPH generado por la ruta del fosfato de pentosa a las tiorredoxinas (Trxs). Estos últimos son un grupo de pequeños péptidos (10 a 12 kD) activos redox y ampliamente distribuidos que tienen un sitio catalítico, -Trp-Cys-Gly-Pro-Cys-Lys-, que sufre oxidación reversible y reducción de los dos residuos de Cys. El sistema de tiorredoxina participa en el control redox de diferentes vías de señalización y regula funciones celulares cruciales como la viabilidad y la proliferación. Además, la expresión de Trx aumenta en varios cánceres humanos primarios. En consecuencia, tanto Trx como TrxR podrían considerarse objetivos adecuados para el desarrollo de nuevos agentes anticancerígenos, ya que su inhibición conduce a la acumulación de H_2O_2 y reduce la capacidad de uno de los sistemas antioxidantes más importantes en las células cancerosas para contrarrestar el daño mediado por ROS. [40]

Perteneciente a la familia de la piridina nucleótido-disulfuro oxidorreductasa como la glutatión reductasa, la lipoamida deshidrogenasa y la tripanotiona reductasa, las TrxRs

forman homodímeros y cada subunidad contiene un sitio activo catalítico activo redox que con una selenocisteína que está unida a una molécula de dinucleótido de adenina-flavina. El centro redox de la selenocisteína se encuentra en una rama flexible de la estructura proteica, expuesto a solventes y reactivo a los agentes electrofílicos. Esto hace que sea un blanco óptimo para el desarrollo de inhibidores enzimáticos selectivos, incluidos los complejos a base de oro con alta afinidad por los grupos selenol.

Dentro de este marco, en los últimos años, se ha informado de una serie de complejos de Au (I), tanto de coordinación como organometálicos, por sus propiedades de inhibición de TrxR, incluida la auranofina. Estos estudios han demostrado una fuerte y selectiva inhibición de TrxR por diferentes familias de complejos de Au(I) NHC, según lo informado inicialmente por Berners-Price *et al*, en 2008. En las células cancerosas, este efecto provocó un desequilibrio general del metabolismo, incluida la actividad mitocondrial, que condujo a la muerte celular apoptótica. En resumen, los resultados informados mostraron que el compuesto induce la apoptosis en las células cancerosas que se dirigen de acuerdo, al menos, tres vías diferentes, a saber: (i) inhibición de TrxR, (ii) inhibición directa de la cadena respiratoria mitocondrial y (iii) daño indirecto sobre el ADN. El conjunto de tales alteraciones resultó en una potente muerte celular programada.

Los resultados obtenidos apuntaron hacia las mitocondrias como objetivos clave para los compuestos de oro del tipo Au(I)-NHC, debido a la inhibición inmediata del consumo de oxígeno en las células cancerosas durante el tratamiento farmacológico, así como a los cambios celulares en el metabolismo energético que conducen al cambio a la glucólisis desde la fosforilación oxidativa, reflejada por un aumento en las tasas de

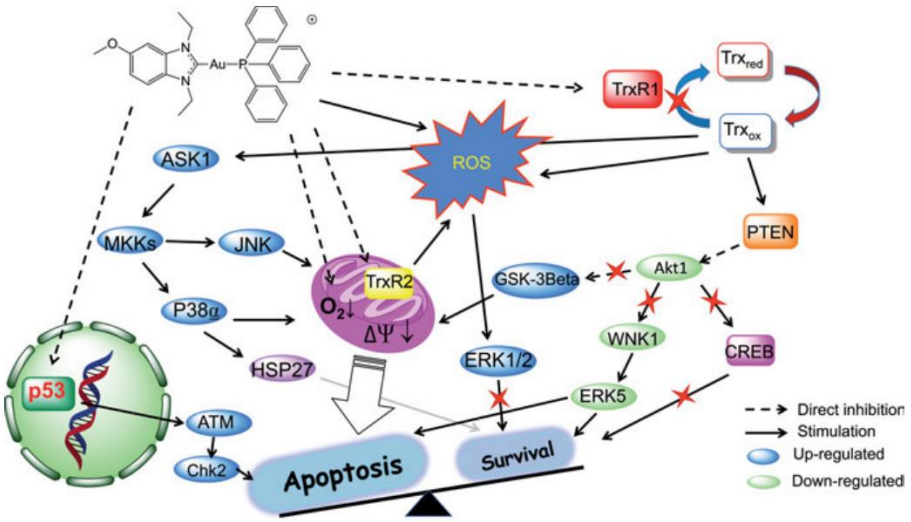


Figura 41. Modelo de señalización subyacente a las vías de muerte celular inducidas por un complejo de Au(I) NHC. [40]

acidificación. Además, los compuestos de Au(I)-NHC aumentan notablemente la producción de ROS, probablemente debido a la inhibición de TrxR. Los efectos celulares generales inducidos por los complejos Au(I)-NHC se resumen en la ***Figura 41***. En particular, se observaron efectos similares en el caso de las células cancerosas tratadas con auranofina.

3.4 Cobre

El cobre es un micronutriente esencial para todos los organismos. Se requiere como cofactor catalítico o como componente estructural de proteínas, con un rol importante en funciones biológicas críticas como la actividad enzimática, el transporte de oxígeno y la señalización celular[53]. El cobre es un metal activo redox y tiene la capacidad de donar y aceptar electrones para cambiar entre estados reducidos (Cu^{+}) y oxidados (Cu^{2+}). Esta propiedad permite que el cobre desempeñe un papel biológico importante en las reacciones de oxidación-reducción (redox), al actuar como cofactor catalítico para la función de numerosas enzimas críticas.[54] En células procariotas, se han identificado más de 10 proteínas que requieren cobre para su función. Estas incluyen citocromo *c* oxidasa (COX), NADH deshidrogenasa-2 (ND2), Cu/Zn-superóxido dismutasa (SOD1) y tirosinasa, por nombrar algunas de las proteínas tipo.

Sorprendentemente, ningún otro metal puede sustituir funcionalmente al cobre en estas "cuproproteínas". En los mamíferos actúa como cofactor catalítico (o alostérico) para numerosas proteínas involucradas en múltiples facetas metabólicas: eliminación de radicales libres, eritropoyesis, metabolismo del hierro, síntesis de tejido conectivo, formación de pigmentos, etc. El papel funcional del cobre en la producción de ATP mediada por COX ilustra la importancia del cobre en el mantenimiento de la vida.

Si bien la actividad redox del cobre es esencial para las reacciones enzimáticas, esta propiedad también la hace potencialmente tóxica. El cobre puede catalizar la producción de radicales libres y esto puede ser perjudicial para los lípidos, las proteínas, el ADN y otras biomoléculas. El cobre también puede interferir con las proteínas que contienen grupos de hierro y azufre y puede desplazar otros metales como el zinc de sus metaloproteínas inhibiendo su actividad. Por lo tanto, el cobre no puede existir de forma libre en el citosol, sino que debe estar complejado en todo momento. Todos los organismos han desarrollado mecanismos sofisticados para regular estrictamente tanto los niveles de cobre como el suministro de cobre a las proteínas que lo requieren.[53]

Los complejos de cobre anticancerígenos se pueden clasificar en dos grupos principales: *quelantes de cobre* e *ionóforos de cobre*. Los quelantes de cobre secuestran iones cobre de las células dentro del cuerpo y, por lo tanto, tienen como objetivo limitar la progresión del cáncer al interferir con el crecimiento y los procesos malignos. Por el contrario, los ionóforos de cobre transportan cobre a las células aumentando los niveles intracelulares y ejerciendo efectos citotóxicos a través de un gran número de vías. Muchos ionóforos de cobre liberan cobre coordinado bajo el ambiente intracelular reductor, permitiendo que el cobre se vuelva biodisponible (intercambiable) y tales compuestos son generalmente más eficientes para matar las células cancerosas. (ver ***figura 42***[53])

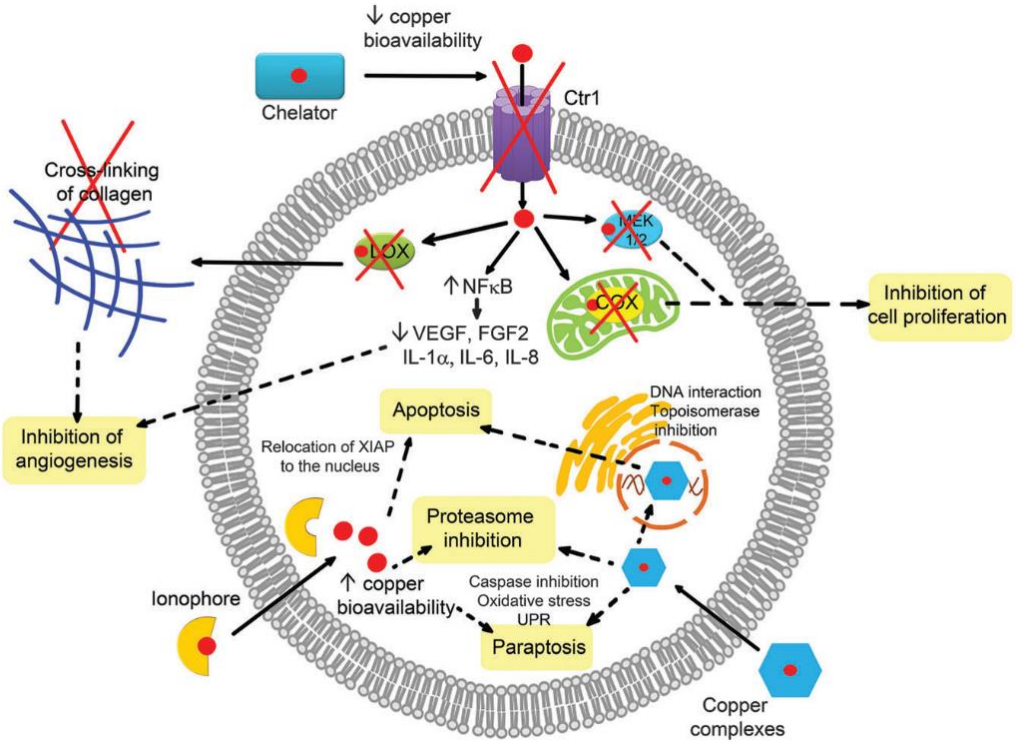


Figura 42. Compuestos de coordinación de cobre dirigidos a células cancerosas

Muchos complejos de cobre se han utilizado en la práctica médica durante décadas para tratar otras afecciones no relacionadas con actividad antitumoral como, por ejemplo, el clioquinol y el disulfiram para la diarrea y el alcoholismo, respectivamente. Pero desde que descubrieron sus actividades antiproliferativas, muchos se han reutilizado en terapias contra el cáncer. Al mismo tiempo, se han realizado estudios de relación estructura-actividad en complejos de cobre conocidos, lo que permite el desarrollo de nuevos análogos a medida y que son específicos para el tratamiento del cáncer. Algunos de estos análogos tienen actividad anticancerígena mejorada, toxicidad reducida hacia células/tejidos normales y una farmacocinética más favorable en estudios preclínicos y/o clínicos.

Presentamos aquí los principales complejos de cobre que se están reutilizando (tetratiomolibdato, clioquinol y disulfiram) para el tratamiento del cáncer para luego analizar varios de los compuestos recientemente desarrollados (electrolomol y tiosemicarbazonas) que surgen prometedores agentes anticancerígenos. Las estructuras de estos complejos de cobre se muestran en la ***Figura 43***.

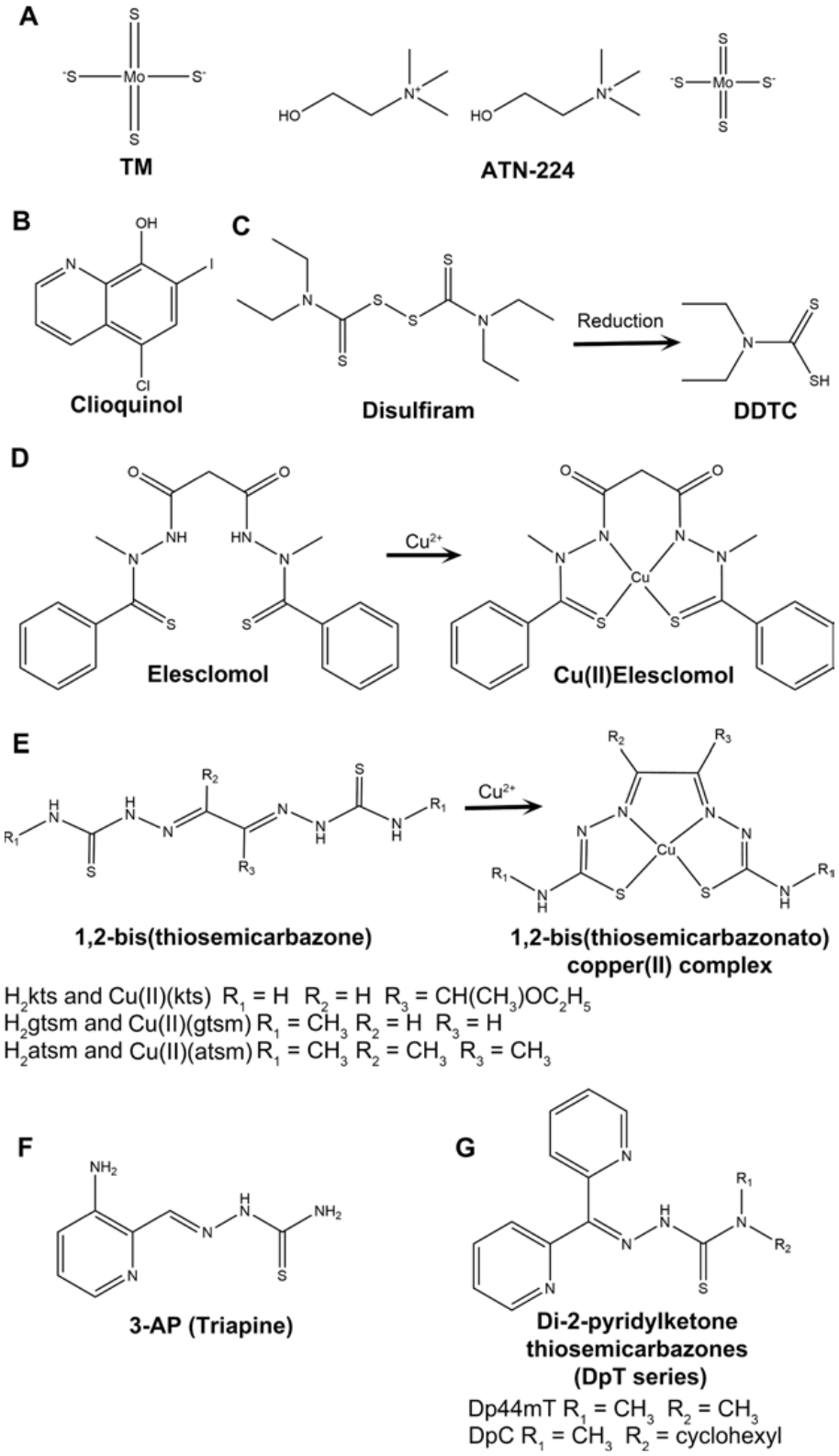


Figura 43. Estructuras químicas de (A) Tetratiomolibdato (TM) y ATN-224 (sal bis-colina de tetratiomolibdato); (B) Clioquinol (5-cloro-7-yodo-quinolin-8-ol); (C) Disulfiram (disulfuro de tetraetiltiuram) y su forma reducida (DDTC; dietilditiocarbamato); (D) Elesclomol [N-malonil-bis (N-metil-N-tiobenzoil hidrazida)] y su complejo neutro de Cu (II)-elesclomol; (E) 1,2-Bis (tiosemicarbazonas) y sus complejos de cobre neutro (II); (F) 3-AP (triapina); (G) Di-2-piridilcetona tiosemicarbazonas (serie DpT).

3.4.1 Tetratioomolibdato

El tetratioomolibdato, TM (ver ***Figura 43A***), ha ganado atención como inhibidor de la angiogénesis para la terapia contra el cáncer. La angiogénesis está controlada por el equilibrio cambiante entre factores estimulantes e inhibidores. Durante las últimas décadas, la apreciación de la importancia de la angiogénesis maligna en la progresión del cáncer y una mejor comprensión de sus mediadores ha conducido al desarrollo de inhibidores angiogénicos para la terapia contra el cáncer. Sin embargo, una limitación es que estos inhibidores a menudo se dirigen a un único mediador angiogénico que conduce a la aparición de resistencia a los medicamentos. Dada la importancia del cobre en muchas vías *pro* angiogénicas, la quelación de cobre puede proporcionar una inhibición de amplio espectro de la angiogénesis y, por lo tanto, resultar mejor para impedir el crecimiento tumoral a largo plazo. El mecanismo de acción de TM como agente anticancerígeno se ha atribuido a sus efectos en numerosos procesos intra y extracelulares (ver ***Figura 44)***. TM es un fuerte quelante de cobre que inhibe la angiogénesis al inhibir el factor de transcripción del factor nuclear kappa B (NF-κB), lo que resulta en una expresión disminuida de cinco factores pro angiogénicos y citocinas (VEGF, bFGF, IL-1, IL-6, e IL-8). TM también deteriora la angiogénesis al inhibir la actividad superóxido dismutasa [Cu-Zn] (SOD1), un regulador de la vasoconstricción y la función endotelial. TM también puede apuntar y suprimir la chaperona de cobre ATOX1 y el transportador de cobre ATP7A, que son responsables del suministro de cobre a las cuproenzimas intracelulares.[54]

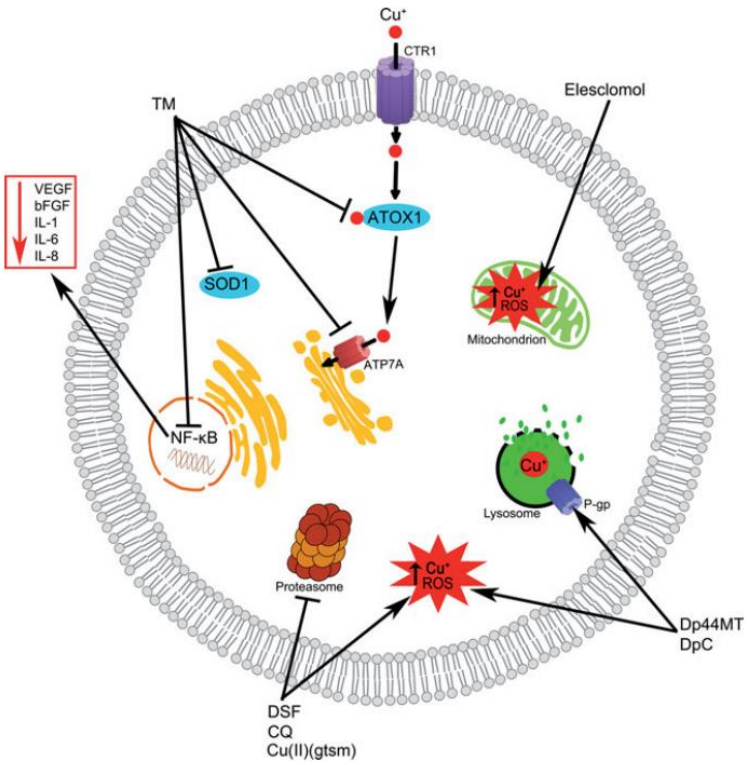


Figura 44. Resumen de los principales objetivos intracelulares de los complejos de cobre **(1)** Tetratiomolibdato (TM) es un fuerte quelante de cobre que bloquea la angiogénesis al inhibir el factor de transcripción del factor nuclear kappa B (NF-κB), lo que resulta en una disminución de la expresión de cinco factores pro-angiogénicos y citocinas (VEGF, bFGF, IL-1, IL-6 e IL-8). TM también deteriora la angiogénesis al inhibir la actividad superóxido dismutasa [Cu-Zn] (SOD1), un regulador de la vasoconstricción y la función endotelial. TM también puede apuntar y suprimir la chaperona de cobre ATOX1 y el transportador de cobre ATP7A, que son responsables del suministro de cobre a las cuproenzimas intracelulares y secretadas (por ejemplo, LOX). **(2)** Cliquinol, disulfiram (DSF) y Cu (II) (gtsm) actúan como ionóforos de cobre y aumentan los niveles intracelulares de cobre biodisponible. Los tres ionóforos de cobre causan la producción intracelular de ROS e inhiben la actividad proteasómica en las células cancerosas, lo que conduce a la apoptosis. **(3)** El elesclomol es un ionóforo que aumenta específicamente los niveles de cobre en las mitocondrias. En este sitio, el cobre se disocia del elesclomol provocando que la producción de ROS interrumpa la cadena de transporte de electrones. **(4)** Dp44MT y DpC son ionóforos de cobre que causan la producción intracelular de ROS. Ambos ionóforos de cobre también se dirigen al lisosoma donde la glicoproteína P de membrana (P-gp) media su influjo y secuestro. Dp44MT y DpC finalmente quedan atrapados en los lisosomas causando la producción de ROS que daña la integridad de la membrana.[54]

3.4.2 Clioquinol

El primer estudio para evaluar el uso potencial del clioquinol como agente terapéutico contra el cáncer fue realizado en 2005 por Ding *et al*[55], sobre la base de que el clioquinol era un quelante de metales (ver ***figura 43B***). Posteriormente se demostró que el clioquinol es un ionóforo en lugar de un quelante y sus propiedades anticancerígenas dependen de su capacidad para transportar metales a las células cancerosas.

Este compuesto transporta cobre a las células de mamíferos y muestra una toxicidad selectiva hacia las células cancerosas, aunque la base de esta selectividad no se ha dilucidado. El cobre en las células malignas puede hacerlas vulnerables a la toxicidad del cobre

ionóforo, pero esto no ha sido confirmado. El cobre ionóforo también puede ser tóxico debido a su actividad redox (por producción de ROS) y al desplazar otros metales de los sitios de unión dentro de proteínas críticas. El clioquinol inhibe la actividad similar a la quimotripsina proteasomal, una característica común a los ionóforos de cobre que aumentan el cobre biodisponible intracelular.[53]

Chen *et al*[56], identificaron que el clioquinol inhibe específicamente el núcleo proteolítico 20S del proteasoma, aumentando posteriormente la cantidad de proteínas ubiquitinadas y el regulador de apoptosis Bax . El cobre puede regular directamente la estabilidad y la agregación de la ubiquitina y el cobre ionóforo, probablemente de alguna manera, ocluye la proteasoma al interferir con el proceso de ubiquitinación.

Se ha demostrado que el clioquinol induce apoptosis en numerosos tipos de cáncer como, por ejemplo, el cáncer de próstata y de mama, leucemia y mieloma. Esta capacidad inductora se cree que es consecuencia de la inhibición de la proteasoma en un proceso que depende completamente del cobre.

Según todos los informes, existe una gran ventana terapéutica entre las células normales y las cancerosas cuando aumenta la concentración del cobre intracelular (cobre ionóforo), esta es la premisa para el desarrollo de ionóforos de cobre en terapias contra el cáncer.

A pesar de la actividad anticancerígena bien caracterizada del clioquinol en múltiples estudios preclínicos, solo se ha completado un ensayo clínico en humanos en pacientes por cáncer. La tolerancia y, en cierta medida, la eficacia del tratamiento oral con clioquinol en 11 pacientes con neoplasias hematológicas avanzadas se investigó en un ensayo de fase I. Análisis posteriores revelaron que se detectó una inhibición leve y transitoria de la proteasoma en células leucémicas de solo 2 pacientes, pero no se observó respuesta clínica. El fracaso del clioquinol para provocar la actividad clínica se atribuyó a la absorción celular deficiente y aparentemente no se relacionó con la dosis administrada. Desde este estudio clínico, el interés en el clioquinol como agente anticancerígeno ha disminuido un poco, ya que se requieren más estudios de desarrollo y farmacocinéticos.[40]

3.4.3 Disulfiram

El DSF (ver ***Figura 43C***) llamó la atención como un compuesto anticancerígeno en 1977, cuando un informe de un caso de pacientes, publicado por E. F. Lewison, presentó resultados asombrosos sobre el uso inadvertido de DSF para tratar a una mujer con cáncer de mama metastásico avanzado[57]. Más recientemente, una paciente con melanoma ocular en estadio IV y metástasis hepáticas mostró un volumen tumoral significativamente reducido durante 53 meses continuos de tratamiento con DSF diario[58]. Gracias a numerosos estudios *in vitro* e *in vivo*, se ha demostrado que el DSF tiene dos actividades principales contra el cáncer; induce apoptosis a través de la inhibición proteasómica y la producción de ROS y puede impedir la angiogénesis a través de múltiples vías.

Se demostró que la capacidad del DSF para inhibir la proteasoma y, por lo tanto, para inducir la apoptosis, es completamente dependiente del cobre y podría exacerbarse agregando cobre exógeno. Téngase en cuenta que la coordinación del cobre probablemente hace que la reducción de DSF produzca dos moléculas DDTC, unidas por un átomo de cobre a través de los sitios de azufre. Sin embargo, la medida en que esto ocurre en el medio, no se ha demostrado claramente.

El DSF actúa como un ionóforo de cobre y aumenta notablemente los niveles de cobre intracelular. El DSF solo puede coordinar el cobre disponible del citosol y aumenta las concentraciones de cobre intracelular de manera más modesta. Además, el cobre puede disociarse del DSF por vía intracelular y volverse biodisponible (intercambiable). Los ionóforos de cobre con esta propiedad biológica inhibieron la actividad proteasómica y generaron niveles considerables de ROS intracelulares en las células cancerosas. La capacidad del DSF para inducir ROS intracelular se ha demostrado en múltiples líneas celulares de cáncer (p. ej., melanoma, glioblastoma) y puede ser anulada por el tratamiento conjunto con antioxidantes (p. ej., N-acetilcisteína) o con fuerte quelantes de cobre (p. ej., TM). Curiosamente, la degradación de ROS a menudo evita la capacidad de DSF para inducir la apoptosis de las células cancerosas, lo que implica que la producción de ROS puede preceder a la inhibición proteasómica.[54]

Otra actividad anticancerígena importante del DSF es la capacidad de inhibir la angiogénesis. Se ha demostrado que el DSF perturba la formación de nuevos vasos sanguíneos y reduce significativamente el crecimiento tumoral ($\geq$ 60%) en varios modelos de ratones con xenoinjerto dependientes de la angiogénesis. La actividad antiangiogénica se atribuyó a la inhibición de SOD1 y el consiguiente aumento de ROS intracelular en las

células endoteliales. Estudios demuestran que la combinación de DSF y cobre puede inhibir la angiogénesis y, por lo tanto, el crecimiento tumoral y las metástasis, al interferir con los componentes críticos de su regulación.

Varios estudios también han indicado que el DSF puede ser adecuado como tratamiento complementario para mejorar la eficacia de ciertas quimioterapias convencionales. La misma propiedad del DSF que lo hace útil como medicamento contra el alcoholismo (por su capacidad para bloquear la actividad del aldehído deshidrogenasa, ALDH), también puede tener implicaciones en el entorno del tratamiento del cáncer. La ALDH se expresa altamente en las células madre cancerosas, en particular en los cánceres de glioblastoma, de mama y de colon, y su actividad está relacionada con una mayor tumorigenicidad y resistencia a la quimioterapia in vivo. Además, el DSF puede inhibir la actividad de la glicoproteína P (P-gp), que puede bombear activamente fármacos citotóxicos fuera de las células. La P-gp desempeña un papel importante en la resistencia intrínseca y adquirida durante la quimioterapia a múltiples fármacos. El DSF puede dirigirse directamente a la P-gp, evitando que la proteína alcance la maduración y, por lo tanto, puede ayudar a prevenir la resistencia a los medicamentos.[54]

3.4.4 Elesclomol

Las investigaciones sobre el mecanismo de acción mediante el cual el elesclomol (ver ***figura 43D***) induce la muerte de células cancerosas revelaron que el cobre desempeñó un papel central. De hecho, la actividad anticancerígena del elesclomol requería que el compuesto coordinara el cobre y ningún otro metal y podía inhibirse con quelantes de cobre de alta afinidad (por ejemplo, TM).[54]

El elesclomol elimina el Cu (II) del medio para formar un complejo neutro de Cu (II)-elesclomol 1: 1, que posteriormente se transporta a la mitocondria, donde interrumpe la cadena de transporte de electrones (ETC). En las mitocondrias, el Cu (II) se disocia del complejo y el ligando de elesclomol sale posteriormente de la célula, pero continúa transportando más Cu (II) extracelular desde el compartimento intracelular (en ciclos dentro y fuera de las células). Además, la reducción del Cu (II) disociado a Cu(I) induce LA aparición ROS mitocondrial. La aparición de las ROS inducida por el elesclomol, activan los factores de transcripción que regulan los genes que responden al estrés oxidativo,

incluidas las proteínas de choque térmico, las metalotioneínas y las proteínas de supervivencia celular.

Existe una gran ventana terapéutica para la actividad anticancerígena del elesclomol entre líneas celulares leucémicas (p. ej., células HL-60; IC_{50} <100 nM) y células mononucleares de sangre periférica normales (IC_{50}>10 μM). Sin embargo, a pesar de que tanto las células normales como las leucémicas toman elesclomol, solo las células cancerosas acumularon cobre, lo que resultó en una mayor producción de ROS, especialmente en las mitocondrias. Se ha demostrado que muchos tipos diferentes de células cancerosas albergan niveles más altos de ROS y una menor capacidad antioxidante que las células normales.[54]

Posiblemente, un aumento de ROS en las células cancerosas puede ser suficiente para alcanzar un umbral de toxicidad y desencadenar la apoptosis. Sin embargo, a diferencia de la mayoría de los otros complejos de cobre, el elesclomol induce selectivamente ROS mitocondriales para inducir la muerte de las células cancerosas. Dirigirse a las mitocondrias representa un modo de acción distinto y prometedor para matar las células cancerosas, en particular para el melanoma, ya que este tipo de cáncer depende en gran medida de la fosforilación oxidativa para aumentar los requerimientos metabólicos.[54]

3.4.5 Complejos *tipo* Cu^{II}(gtsm) y Cu^{II}(atsm)

La actividad anticancerígena de [Cu^{II}(gtsm)] (ver ***Figura 43E***) [gtsm es el glioxal-bis-(N4-metiltiosemicarbazonato)] depende del cobre coordinado y la generación de ROS intracelulares. Además, se ha comprobado que el aumento de las concentraciones de cobre extracelular aumentaba la actividad anticancerígena de [Cu^{II}(gtsm)] y su ligando (H_2gtsm) solo era tóxico para las células de cáncer de próstata cuando estaba presente el cobre. Es importante destacar que el complejo [Cu^{II}(gtsm)] ataca selectivamente y destruye rápidamente las células de cáncer de próstata sin dañar las células epiteliales de próstata normales.

[Cu^{II}(gtsm)] también inhibe la proteasoma, otra característica común a los ionóforos de cobre que aumentan el cobre intracelular biodisponible. No se ha determinado la importancia comparativa de la producción de ROS frente a la inhibición de la proteasoma para la actividad anticancerígena de [Cu^{II}(gtsm)]. Además, recientemente se ha demostrado que [Cu^{II}(gtsm)] causa la muerte de las células cancerosas, al menos en parte, al

inducir la permeabilización de la membrana lisosómica. Por lo tanto, se requieren más estudios para delinear qué objetivos son los más importantes en la actividad anticancerígena de [Cu^{II}(gtsm)].[54]

[Cu^{II}(atsm)] (ver ***Figura 43E***) (astm es diacetil-bis-(N4-metiltiosemicarbazonato) solo puede liberar su cobre coordinado intracelularmente en ambientes reductores, como en los que se presentan en tejidos hipóxicos. En tales condiciones, el cobre disociado se reduce a Cu(II) y en consecuencia, el ligando (H_2atsm) queda atrapado dentro de la(s) célula(s). Muchos tipos de cáncer son hipóxicos debido al suministro de sangre inadecuado y esto se ha asociado con la agresividad, así como la existencia de metástasis y resistencia a las quimioterapias y radioterapias estándar. El potencial uso de [Cu^{II}(atsm)] como marcador de hipoxia se ha evaluado ampliamente tanto en estudios preclínicos como clínicos. Los estudios clínicos a pequeña escala que utilizan imágenes PET (acrónimo inglés de Tomografía por Emisión de Positrones) con Cu^{II}(atsm) radiomarcado (^{60}Cu, ^{64}Cu o ^{62}Cu), han permitido la identificación de pacientes con cáncer que probablemente respondan a la quimioterapia o radioterapia, en particular para los cánceres de pulmón, cuello uterino, recto y cabeza y cuello.[54]

Chao *et al*[58], sugirieron que las imágenes de PET utilizando [^{60}Cu(atsm)] podrían guiar la radioterapia de intensidad modulada del cáncer de cabeza y cuello, como un enfoque novedoso para superar la resistencia tumoral asociada con la hipoxia.

Las características físicas del ^{64}Cu no solo permiten su uso como un radiotrazador PET, sino también como un radioisótopo terapéutico, ya que también emite electrones Auger generadores de β-emisión adecuados para aplicaciones terapéuticas.[54]

3.4.6 Dp44mT

La modificación de la estructura de triapina[59] (ver ***Figura 43F***), ha derivado al desarrollo de varias nuevas series de tiosemicarbazonas. Estos incluyen las 2-piridilcetona tiosemicarbazonas (serie DpT). Uno de estos compuestos, el Dp44Mt (ver ***Figura 43G***) (di-2-piridilcetona 4,4-dimetil-3-tiosemicarbazona) surgió como el candidato más prometedor y, a pesar de estar estructuralmente relacionado con la triapina, tenía una actividad biológica distinta. Se cree que la serie DpT de tiosemicarbazonas inhibe la metástasis, regulando al alza la expresión de la proteína NDRG1 (una proteína supresora de la metástasis). Se ha demostrado que el cobre juega un papel más importante en la actividad

anticancerígena de Dp44mT. A diferencia de la triapina, donde la coordinación del cobre anula su actividad anticancerígena, el complejo de cobre de Dp44mT posee una mayor actividad anticancerígena que su análogo de hierro. Dp44mT es un ionóforo de cobre típico y, en consecuencia, genera ROS intracelulares, que se pueden eliminar mediante el uso de una fuerte quelación con el cobre (p. ej., TM) o al aumentar los niveles de glutatión antioxidante intracelular[54].

Inicialmente, se pensó que la acción anticancerígena de Dp44mT era similar a la de la triapina y se atribuyó a la formación de un complejo de Fe (III). El ciclo redox del complejo triapina-Fe (III) genera ROS intracelular, impide la acción del sistema antioxidante relacionado con el tiol (glutatión, tiorredoxina y glutaredoxina) e inhibe a la RNR (ribonucleótido reductasa) mediante la modificación de su enlace disulfuro. Sin embargo, más tarde se demostró que el cobre juega un papel más importante en la actividad anticancerígena de Dp44mT. A diferencia de la triapina, donde la coordinación del cobre anula su actividad anticancerígena, el complejo Dp44mT poseía una mayor actividad anticancerígena que su complejo de hierro correspondiente. Dp44mT es un ionóforo de cobre típico y en consecuencia, genera ROS intracelulares, que se pueden anular usando quelación de cobre (p. ej., TM) o aumentando los niveles de glutatión antioxidante intracelular. Sin embargo, Dp44mT también se dirige al lisosoma como parte de su actividad anticancerígena. El complejo de cobre Dp44mT se acumula en los lisosomas haciendo que su membrana se permeabilice, provocando la posterior liberación de su contenido en el citosol. Esto desencadena una cascada de eventos metabólicos que conducen a la muerte celular.

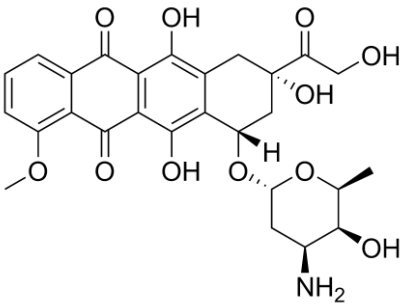


Figura 45. Estructura de la Doxorrubicina

La capacidad de Dp44mT de emplear P-gp para mejorar la toxicidad tiene implicaciones importantes tanto para resistir como para superar la resistencia a los medicamentos. Por ejemplo, Dp44mT podría usarse en combinación con doxorrubicina (ver ***figura 45*** [60]) para potenciar su actividad anticancerígena, al provocar la liberación de doxorrubicina de los lisosomas y, por lo tanto, permitirle alcanzar su objetivo, el núcleo.

3.4.7 DpC

Desafortunadamente, se encontró que Dp44mT induce fibrosis cardíaca en ratones y esto llevó al desarrollo de análogos de DpT de segunda generación, donde el H en N4 fue reemplazado por un grupo alquilo. De estos compuestos, DpC (ver ***Figura 43G***) (di-2-piridilcetona 4-ciclohexil-4-metil-3-tiosemicarbazona) fue más potente y mejor tolerado que Dp44mT y no causa fibrosis cardíaca ni metahemoglobina, incluso cuando se administra a dosis altas en ratones. Otra ventaja de DpC es que puede administrarse por vía oral sin toxicidad aparente, a diferencia de Dp44mT, que causa pérdida de peso y cardiotoxicidad cuando se administra por vía oral a dosis altas. En ratones que albergan xenoinjertos de pulmón humano (células del *tipo* DMS-53) o pancreáticos (células del *tipo* PANC-1), la DpC inhibió de forma potente el crecimiento del cáncer en más del 80% en comparación con las muestras de control. En el modelo de cáncer de páncreas, se descubrió que la actividad anticancerígena de DpC era muy superior al tratamiento con gemcitabina[61], el quimioterapéutico actual de primera línea para la terapia de cáncer de páncreas. DpC tiene mejor farmacocinética que Dp44mT y con un tiempo de residencia media en el cuerpo por mucho más tiempo ($t_{1/2}$ = 1,7 h para Dp44mT frente 10,7 h para DpC).[54]

Es importante destacar que, análogamente a lo que ocurre con Dp44mT, la alta expresión de P-gp en las células cancerosas aumentó la capacidad de incorporación de DpC en los lisosomas, lo que potencia su actividad anticancerígena. Un estudio independiente realizado por el Programa de Terapéutica del Desarrollo del Instituto Nacional del Cáncer de EE. UU, reveló que DpC inhibió el crecimiento en 59 de las 60 líneas celulares de cáncer humano analizadas, con concentraciones que van desde <10 nM a 300 nM.[54]

4 Conclusiones

Durante el último medio siglo, se han realizado grandes avances hacia la comprensión de los efectos de las modificaciones de los ligandos sobre el comportamiento biológico de los complejos anticancerosos de diversos metales, como son el platino, el rutenio, el oro y el cobre, de los que trata esta memoria.

A pesar de que se han logrado avances en el tratamiento de cáncer con complejos metálicos, todavía hay muchos obstáculos que superar en términos de diseño de complejos metálicos anticancerígenos óptimos. Uno de los principales desafíos es determinar dónde lograr el equilibrio entre la citotoxicidad y la capacidad de penetración del fármaco al tumor, ya que la alta acumulación celular requerida para una alta actividad suele ser una barrera para la penetración del tumor.

Los complejos metálicos han demostrado ser herramientas poderosas cuando se trata del diagnóstico y tratamiento de enfermedades. Las interacciones entre el ADN y el complejo metálico se han investigado exhaustivamente. Está claro que se pueden utilizar combinaciones de estos modos de interacción para mejorar la afinidad de unión y la selectividad de los complejos metálicos. Lo que es evidente es que la flexibilidad en el diseño de nuevos fármacos basados en complejos de coordinación de metales de transición es enormemente amplia. Esto hace que los complejos metálicos sean potentes agentes terapéuticos contra el cáncer a parte de su uso como agentes de diagnóstico útiles para explorar la diversidad estructural del ADN.

5 Referencias/Bibliografía

(1) Cáncer https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cancer (accessed Jun 22, 2020).

(2) Koch, G. Medicinal Chemistry. *Chimia (Aarau).* **2017**, *71* (10), 643. https://doi.org/10.1021/ie50495a015.

(3) Kauffman, S. a; Group, N. P. © 1969 Nature Publishing Group. *Group* **1969**, *224*, 177–178. https://doi.org/10.1038/224488a0.

(4) Komeda, S. Unique Platinum-DNA Interactions May Lead to More Effective Platinum-Based Antitumor Drugs. *Metallomics* **2011**, *3* (7), 650–655. https://doi.org/10.1039/c1mt00012h.

(5) Barone, G.; Terenzi, A.; Lauria, A.; Almerico, A. M.; Leal, J. M.; Busto, N.; García, B. DNA-Binding of Nickel(II), Copper(II) and Zinc(II) Complexes: Structure-Affinity Relationships. *Coord. Chem. Rev.* **2013**, *257* (19–20), 2848–2862. https://doi.org/10.1016/j.ccr.2013.02.023.

(6) X. Lin, T. Okuda, A. Holzer, S. B. H. No Title. *Mol. Pharmacol* **2002**, *62*, 1154.

(7) Z.Y. Wu, Q. Liu, X. Liang, X.L.Yang, X.H. Wang, H.Z. Sun, Y. Lu, Z. J. G. No Title. *J. Biol. Inorg. Chem* **2009**, No. 14, 1313–1323.

(8) F. Arnesano, S. Scintilla, G. N. No Title. *Angew.Chem. Int. Ed. Eng* **2007**, *46*, 9062–9064.

(9) X.Y. Wang, Z. J. G. No Title. *Anticancer Agents Med. Chem* **2007**, *7*, 19–34.

(10) Albertella, M. R.; Green, C. M.; Lehmann, A. R.; O'Connor, M. J. A Role for Polymerase η in the Cellular Tolerance to Cisplatin-Induced Damage. *Cancer Res.* **2005**, *65* (21), 9799–9806. https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-05-1095.

(11) Mezencev, R. Interactions of Cisplatin with Non-DNA Targets and Their Influence on Anticancer Activity and Drug Toxicity: The Complex World of the Platinum Complex. *Curr. Cancer Drug Targets* **2015**, *14* (9), 794–816. https://doi.org/10.2174/1568009614666141128105146.

(12) Pinato, O.; Musetti, C.; Sissi, C. Pt-Based Drugs: The Spotlight Will Be on

Proteins. *Metallomics* **2014**, *6* (3), 380–395. https://doi.org/10.1039/c3mt00357d.

(13) Dabrowiak, J. C. Platinum Anticancer Drugs. In *Metals in Medicine*; John Wiley & Sons, 2009; pp 109–147. https://doi.org/10.1007/978-94-011-1252-9_2.

(14) Liu, P., Lu, Y., Gao, X. et al. Highly Water-Soluble Platinum(II) Complexes as GLUT Substrates for Targeted Therapy: Improved Anticancer Efficacy and Transporter-Mediated Cytotoxic Properties. *Chem. Commun. (Cambridge, UK)* **2013**, *49* (24), 2421–2423.

(15) Margiotta, N., Papadia, P., Lazzaro, F. et al. Platinum-Based Antitumor Drugs Containing Enantiomerically Pure α-Trifluoromethyl Alanine as Ligand. *J. Med. Chem* **2005**, *48* (24), 7821–7828.

(16) Enhanced permeability and retention effect - Wikipedia https://en.wikipedia.org/wiki/Enhanced_permeability_and_retention_effect (accessed Jul 23, 2020).

(17) Alice V. Klein, T. W. H. Platinum-Based Anticancer Agents. In *Ligand Design in Medicinal Inorganic Chemistry*; Storr, T., Ed.; John Wiley & Sons, 2014; pp 9–45. https://doi.org/10.2174/9781608051618110010298.

(18) Feazell, R.P., Nakayama-Ratchford, N., Dai, H. and Lippard, S. . Soluble Single-Walled Carbon Nanotubes as Longboat Delivery Systems for Platinum(IV) Anticancer Drug Design. *J. Am. Chem. Soc* **2007**, *129* (27), 8438–8439.

(19) Folate receptor - Wikipedia https://en.wikipedia.org/wiki/Folate_receptor (accessed Jul 23, 2020).

(20) Brown, S.D., Nativo, P., Smith, J.-A. et al. Gold Nanoparticles for the Improved Anticancer Drug Delivery of the Active Component of Oxaliplatin. *J. Am. Chem. Soc* **2010**, *132* (13), 4678–4684.

(21) Min, Y., Mao, C., Xu, D. et al. Gold Nanorods for Platinum Based Prodrug Delivery. *Chem. Commun* **2010**, *46* (44), 8424–8426.

(22) Klenner, T., Wingen, F., Keppler, B. K. et al. Anticancer-Agent-Linked Phosphonates with Antiosteolytic and Antineoplastic Properties: A Promising Perspective in the Treatment of Bone-Related Malignancies? *J. Cancer Res. Clin. Oncol* **1990**, *116* (4), 341–350.

(23) Piccinonna, S., Margiotta, N., Pacifico, C. et al. Dinuclear Pt(II)-Bisphosphonate Complexes: A Scaffold for Multinuclear or Different Oxidation State Platinum Drugs. *Dalt. Trans* **2012**, *41* (32), 9689–9699.

(24) Xue, Z., Lin, M., Zhu, J. et al. Platinum(II) Compounds Bearing Bone-Targeting Group: Synthesis, Crystal Structure and Antitumor Activity. *Chem. Commun. (Cambridge, UK)* **2010**, *46* (8), 1212–1214.

(25) Dabrowiak, J. C. Ruthenium, Titanium and Gallium for Treating Cancer. In *Metals in Medicine*; John Wiley & Sons, Ltd, 2009; pp 149–189. https://doi.org/10.1002/9780470684986.ch5.

(26) Thangavel, P.; Viswanath, B.; Kim, S. Recent Developments in the Nanostructured Materials Functionalized with Ruthenium Complexes for Targeted Drug Delivery to Tumors. *Int. J. Nanomedicine* **2017**, *Volume 12*, 2749–2758. https://doi.org/10.2147/IJN.S131304.

(27) Thota, S.; Rodrigues, D. A.; Crans, D. C.; Barreiro, E. J. Ru(II) Compounds: Next-Generation Anticancer Metallotherapeutics? *Journal of Medicinal Chemistry*. American Chemical Society July 26, 2018, pp 5805–5821. https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.7b01689.

(28) Rilak Simović, A.; Masnikosa, R.; Bratsos, I.; Alessio, E. Chemistry and Reactivity of Ruthenium(II) Complexes: DNA/Protein Binding Mode and Anticancer Activity Are Related to the Complex Structure. *Coordination Chemistry Reviews*. Elsevier B.V. November 1, 2019, p 113011. https://doi.org/10.1016/j.ccr.2019.07.008.

(29) Brabec, V.; Kasparkova, J. Ruthenium Coordination Compounds of Biological and Biomedical Significance. DNA Binding Agents. *Coord. Chem. Rev.* **2018**, No. 376, 75–94. https://doi.org/10.1016/j.ccr.2018.07.012.

(30) Kenny, R. G.; Marmion, C. J. Toward Multi-Targeted Platinum and Ruthenium Drugs - A New Paradigm in Cancer Drug Treatment Regimens? *Chem. Rev.* **2019**, *119* (2), 1058–1137. https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.8b00271.

(31) B.K. Keppler, K.-G. Lipponer, B. Stenzel, F. K. *Metal Complexes in Cancer Chemotherapy*; Keppler, B. K., Ed.; VCH: Weinheim: B.K. Keppler, 1993.

(32) Clarke, M. J. Ruthenium Metallopharmaceuticals (Vol 232, Pg 69, 2002). *Coord. Chem. Rev.* **2003**, *236* (1–2), 209–233. https://doi.org/10.1016/s0010-8545(02)00311-9.

(33) Clarke, M.J., Zhu, F., and Frasca, D. . Non-Platinum Chemotherapeutic Metallopharmaceuticals. *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 2511–2533.

(34) Brindell, M., Stawoska, I., Supel, J. et al. The Reduction of (ImH)[Trans-RuIIICl4(Dmso)(Im)] under Physiological Conditions: Preferential Reaction of the Reduced Complex with Human Serum Albumin. *J. Biol. Inorg. Chem. JBIC a Publ. ofthe Soc. ofBiological Inorg. Chem.* **2008**, *13*, 909–918.

(35) Kratz, F., Hartman, M., Keppler, B., and Messori, L. The Binding Properties of Two Antitumor Ruthenium (III) Complexes to Apotransferrin. *J. Biol. Chem.* **1994**, *269*, 2581–2588.

(36) J. Tauchman, B. Therrien, G. Süss-Fink, P. S. No Title. *Organometallics* **2012**, *31*, 3985–3994.

(37) J. Tauchman, G. Süss-Fink, P. Stepnicka, O. Zava, P.J. Dyson, J. No Title. *Organomet. Chem* **2013**, *723*, 233–238.

(38) Estaurosporina - Wikipedia https://en.wikipedia.org/wiki/Staurosporine (accessed Jul 29, 2020).

(39) Dabrowiak, J. C. Gold Compounds for Treating Arthritis, Cancer and Other Diseases. *Met. Med.* **2009**, 191–217. https://doi.org/10.1002/9780470684986.ch6.

(40) Casini, A.; Sun, R. W. Y.; Ott, I. Medicinal Chemistry of Gold Anticancer Metallodrugs. In *Metal ions in life sciences*; Astrid Sigel, Helmut Sigel, Eva Freisinger, and R. K. O. S., Ed.; Walter de Gruyter GmbH: Berlin, Germany, 2018; Vol. 18, pp 199–217. https://doi.org/10.1515/9783110470734-013.

(41) J. L. Hickey, R. A. Ruhayel, P. J. Barnard, M. V. Baker, S. J. Berners-Price, A. F. No Title. *J. Am. Chem. Soc* **2008**, *130*, 12570–12571.

(42) R. Rubbiani, I. Kitanovic, H. Alborzinia, S. Can, Kitanovic A., L. A. Onambele, M. Stefanopoulou, Y. Geldmacher, W. S. Sheldrick, G. Wolber, A. Prokop, S. Wölfl, I. O. No Title. *J. Med. Chem* **2010**, *53*, 8608–8618.

(43) C. Bazzicalupi, M. Ferraroni, F. Papi, L. Massai, B. Bertrand, L. Messori, P. Gratteri, A. C. No Title. *Angew.Chem. Int.* **2016**, *55*, 42564–4259.

(44) B. Bertrand, L. Stefan, M. Pirrotta, D. Monchaud, E. Bodio, P. Richard, P. Le Gendre, E. Warmerdam, M. H. De Jager, G. M. M. Groothuis, M. Picquet, A. C. No Title. *Inorg. Chem* **2014**, *53*, 2296–2303.

(45) A. Meyer, C. P. Bagowski, M. Kokoschka, M. Stefanpoulou, H. Alborzinia, S. Can, D. H. Vlecken, W. S. Sheldrick, S. Wölfl, I. O. No Title. *Angew.Chem. Int.* **2012**, *51*, 8895– 8899.

(46) Zou, T.; Lum, C. T.; Chui, S. S.; Che, C. Gold(III) Complexes Containing N-Heterocyclic Carbene Ligands: Thiol "Switch-on" Fluorescent Probes and Anti-Cancer Agents. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2013**, *52* (10), 2930–2933.

(47) Enzima desubiquitinante - Wikipedia https://en.wikipedia.org/wiki/Deubiquitinating_enzyme (accessed Aug 4, 2020).

(48) Hollis, L. S.; Lippard, S. J. Synthesis, Structure, and Platinum-195 NMR Studies of Binuclear Complexes of Cis-Diammineplatinum(II) with Bridging .Alpha.-Pyridonate Ligands. *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105* (11), 3494–3503.

(49) Messori, L.; Abbate, F.; Marcon, G.; Orioli, P.; Fontani, M.; Mini, E.; Mazzei, T.; Carotti, S.; O'Connell, T.; Zanello, P. Gold(III) Complexes as Potential Antitumor Agents: Solution Chemistry and Cytotoxic Properties of Some Selected Gold(III) Compounds. *J. Med. Chem.* **2000**, *43* (19), 3541–3548.

(50) Nobili, S.; Mini, E.; Landini, I.; Gabbiani, C.; Casini, A.; Messori, L. Gold Compounds as Anticancer Agents: Chemistry, Cellular Pharmacology, and Preclinical Studies. *Med. Res. Rev.* **2010**, *30* (3), 550–580.

(51) Che, C. M.; Sun, R. W. Y.; Yu, W. Y.; Ko, C. B.; Zhu, N.; Sun, H. Gold(III) Porphyrins as a New Class of Anticancer Drugs: Cytotoxicity, DNA Binding and Induction of Apoptosis in Human Cervix Epitheloid Cancer Cells. *Chem. Commun.* **2003**, *3* (14), 1718–1719. https://doi.org/10.1039/b303294a.

(52) Lum, C. T.; Wong, A. S.; Lin, M. C.; Che, C.; Sun, R. W. A Gold(Iii) Porphyrin Complex as an Anti-Cancer Candidate to Inhibit Growth of Cancer-Stem Cells. *Chem. Commun.* **2013**, *49* (39), 4364–4366.

(53) Denoyer, D.; Masaldan, S.; La Fontaine, S.; Cater, M. A. Targeting Copper in Cancer Therapy: “Copper That Cancer.” *Metallomics*. Royal Society of Chemistry November 1, 2015, pp 1459–1476. https://doi.org/10.1039/c5mt00149h.

(54) Denoyer, D.; Clatworthy, S. A. S.; Cater, M. A. *Copper Complexes in Cancer Therapy*; 2018; Vol. 18. https://doi.org/10.1515/9783110470734-016.

(55) Ding, W.-Q.; Liu, B.; Vaught, J. L.; Yamauchi, H.; Lind, S. E. Anticancer Activity of the Antibiotic Clioquinol. *Cancer Res.* **2005**, *65* (8), 3389–3395.

(56) Chen, D.; Cui, Q. C.; Yang, H.; Barrea, R. A.; Sarkar, F. H.; Sheng, S.; Yan, B.; Reddy, G. P. V.; Dou, Q. P. Clioquinol, a Therapeutic Agent for Alzheimer’s Disease, Has Proteasome-Inhibitory, Androgen Receptor-Suppressing, Apoptosis-Inducing, and Antitumor Activities in Human Prostate Cancer Cells and Xenografts. *Cancer Res.* **2007**, *67* (4), 1636–1644. https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-06-3546.

(57) Lewison, E. F. Spontaneous Regression of Breast Cancer. *Prog. Clin. Biol. Res.* **1977**, *12*, 47–53.

(58) Brar, S. S.; Grigg, C.; Wilson, K. S.; Holder, W. D.; Dreau, D.; Austin, C.; Foster, M.; Ghio, A. J.; Whorton, A. R.; Stowell, G. W.; Whittall, L. B.; Whittle, R. R.; White, D. P.; Kennedy, T. P. Disulfiram Inhibits Activating Transcription Factor/Cyclic AMP-Responsive Element Binding Protein and Human Melanoma Growth in a Metal-Dependent Manner in Vitro, in Mice and in a Patient with Metastatic Disease. *Mol. Cancer Ther.* **2004**, *3* (9), 1049—1060.

(59) Liu, M.-C.; Lin, T.-S.; Sartorelli, A. C.; Potential Antitumor, A. C. Synthesis and Antitumor Activity of Amino Derivatives of Pyridine-2- Carboxaldehyde Thiosemicarbazone. *J. Med. Chem* **1992**, *35* (2), 172–181.

(60) Doxorrubicina - Wikipedia, la enciclopedia libre https://es.wikipedia.org/wiki/Doxorrubicina (accessed Aug 5, 2020).

(61) Gemcitabina - Wikipedia, la enciclopedia libre https://es.wikipedia.org/wiki/Gemcitabina (accessed Aug 5, 2020).

(62) Duncan, C.; White, A. R. Copper Complexes as Therapeutic Agents.

Metallomics. Royal Society of Chemistry February 1, 2012, pp 127–138. https://doi.org/10.1039/c2mt00174h.

(63) Bazzicalupi, C.; Ferraroni, M.; Papi, F.; Massai, L.; Bertrand, B.; Messori, L.; Gratteri, P.; Casini, A. Determinants for Tight and Selective Binding of a Medicinal Dicarbene Gold(I) Complex to a Telomeric DNA G-Quadruplex: A Joint ESI MS and XRD Investigation. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2016**, *55* (13), 4256–4259. https://doi.org/10.1002/anie.201511999.

(64) Hung, F.; To, W.; Zhang, J.; Ma, C.; Wong, W.; Che, C. Water-Soluble Luminescent Cyclometalated Gold(III) Complexes with Cis-Chelating Bis(N-Heterocyclic Carbene) Ligands: Synthesis and Photophysical Properties. *Chem. – A Eur. J.* **2014**, *20* (28), 8604–8614.

6 Agradecimientos

"A mis padres, y a toda mi familia, gracias a quienes soy quien soy y hacia quienes sólo puedo expresar mi más sincero agradecimiento por apoyarme durante la etapa académica que hoy culmina".

"A los profesores, Dr. D. Pedro Francisco Martín Zarza y Dr. Dña. Ilaria Gamba, por su guía y apoyo durante el transcurso de este TFG".