



Disseny de diamines i els seus complexos de platí(II). Estudi de l'activitat antiproliferativa

TESI DOCTORAL

Marina Gay i Marín

Novembre de 2004



Els sotasignats Dra. Virtudes Moreno Martínez, Professora Catedràtica de Química Inorgànica de la Universitat de Barcelona i Dr. Angel Montaña Pedrero, Professor Titular de Química Orgànica de la Universitat de Barcelona,

CERTIFIQUEM

que la memòria que duu per títol *Disseny de diamines i els seus complexos de platí (II). Estudi de l'activitat antiproliferativa* recull el treball realitzat per na Marina Gay i Marín sota la nostra direcció, i que constitueix la seva memòria per a optar al grau de Doctora en Ciències Químiques.

I perquè així consti signem el present certificat a Barcelona, octubre de 2004.

Dra. Virtudes Moreno Martínez

Dr. Angel Montaña Pedrero

Ventana sobre la utopía

Ella está en el horizonte -dice Fernando Birri-. Me acerco dos pasos, ella se aleja dos pasos. Camino diez pasos y el horizonte se corre diez pasos más allá. Por mucho que yo camine nunca la alcanzaré. ¿Para qué sirve la utopía? Para eso sirve: para caminar.

Las Palabras Andantes, Eduardo Galeano.

És molta la gent que en algun moment i potser de la forma més inesperada ha tingut alguna cosa a veure amb aquest treball. Vull agrair-vos la vostra contribució i el vostre suport perquè sense tots vosaltres no hauria estat possible.

En primer lloc he d'agrair als meus directors de tesi, el Dr. Ángel Montaña i la Dra. Virtudes Moreno, el seu recolzament, la dedicació i la confiança dipositada en mi per a dur a terme aquest projecte.

També vull donar les gràcies a la M^a Pilar Navarro el seu ajut en la manipulació dels aparells, als responsables de RMN i del servei de masses per a la realització dels espectres, al Serveis Científico-tècnics de la Universitat de Barcelona per la resolució de les estructures cristal·lines.

L'estada a Bari m'ha aportat un munt de coneixements tant a nivell personal com a nivell científic, per això agraeixo als meus supervisors Dr. Giovanni Natile i Dr. Mauro Coluccia pel seu extraordinari acolliment, a l'Angela per introduir-me en el món de la citotoxicitat i al Giuseppe, la Dora, la Valeria, la Rossela, l'Alessandra, la M^a Luisa, l'Angelo, l'Angela, el Maxi i el Mauro per fer-me l'estada tan agradable.

El grup de recerca ha anat creixent i hi anat passant molta gent sempre aportant el seu granet de sorra. El Pedro i el Roger als inicis, l'Albert i l'Alfonso, embarcats en el meu mateix vaixell, la Rosa i el Chesa sempre amb aquell bon humor que et feien els matins fins i tot agradables, el Cal·los i la seva bona música, el Marçal, amb qui comparteixo aquella complicitat, la Francina, l'Annabel, la Gloria, l'André i l'Alex, el Joan, amb els seus principis, el Jordi, el friki més friki i sempre disposat a col·laborar, l'Anna, l'Stefano i el Francisco. I evidentment no puc oblidar-me de la Rosa, Rosa, Rosa per estar sempre disponible i per amenitzar qualsevol situació.

A tots els amics de la carrera, que molts han passat pel departament, i sempre han estat allí, l'Olga, l'Agus, la Lu, en Dani, la Sílvia. I tota la gent nova que anat coneixent en el departament i que sempre ha tingut un sí per resposta.

Tota aquesta feina hauria estat impossible sense una via d'escapament, que en el meu cas ha estat la muntanya :D!!! Lore, Marta, Fer, Javi, K, Toni, Laia S., Laia B., Joan, Núria, Berta, Núria gràcies per compartir amb mi moments tan màgics en cims, refus, tendes, travesses inacabables, encigalades amb frontals i les "agulletes" dels dilluns que no ens permetien baixar per les escales de la facultat.

BELL-LLOCH!!!!!! ja sabeu a què em refereixo Núria, Joan, Aleix, Carol, Mateu i Berta.

Vull donar també les gràcies a les Núries i l'Albert per aquesta amistat tan especial i a la Berta per tants somriures de "vols dir?".

A la meua family que m'aguanta, em comprèn i ho accepta tot, mil i una gràcies.

I finalment a en Joan, no només pel suport informàtic, que ha estat crucial, sinó també per la capacitat de transmetre la seva alegria per la vida.

Índex general

Índex	i
Índex de compostos	vii
Abreujaments	xi

I. Introducció i objectius

Capítol 1. Introducció i objectius	1
------------------------------------	---

II. Síntesi i caracterització dels compostos

Capítol 2. Síntesi de diamines terciàries	25
Capítol 3. Síntesi de diamines bicíclics i els seus complexos de platí(II)	49
Capítol 4. Síntesi de diamines monocíclics i els seus complexos de platí(II)	65

III. Interacció amb el DNA i citotoxicitat

Capítol 5. Estudis d'interacció amb el DNA	109
Capítol 6. Estudi de la citotoxicitat	137

IV. Resum i conclusions

Capítol 7. Resum i conclusions	147
--------------------------------	-----

V. Materials i procediments experimentals

Capítol 8. Materials i procediments experimentals	151
---	-----

VI. Annexos

Annex I. Determinacions cristal·logràfiques	213
Annex II. Espectres de diòisme circular	223
Annex III. Selecció d'espectres	227

Índex

Capítol 1. Introducció i objectius

1.1. Introducció	1
1.1.1. El càncer	1
1.1.2. Quimioteràpia	2
1.2. El cisplatí	4
1.2.1. Mecanisme d'actuació	5
1.2.2. Mecanismes de resistència	9
1.3. Desenvolupament de nous fàrmacs	11
1.3.1. L'oxaliplatí	11
1.4. Estudi de la relació estructura-activitat en compostos de platí	13
1.4.1. Influència de la solubilitat	14
1.4.2. Influència dels alcohols i dels àcids carboxílics	15
1.4.3. Influència de les amines	16
1.4.4. Influència de la quiralitat	18
1.4.5. Compostos organometàl·lics	19
1.4.6. Compostos amb doble mecanisme d'acció	20
1.4.7. Compostos en disposició trans	20
1.4.8. Farmacocinètica	21
1.5. Perspectives de futur	21
1.6. Objectius	21

Capítol 2. Síntesi de diamines terciàries

2.1. Introducció	25
2.2. Síntesi dels compostos 5 i 6	26
2.2.1. Síntesi dels lligands 3 i 4	26
2.2.1.1. Hidròlisi de l'anhídrid i reacció d'amidació.	
Obtenció dels compostos 1 i 2	27
2.2.1.2. Reducció a amina i hidrogenació catalítica del doble enllaç.	
Obtenció dels compostos 3 i 4	28
2.2.2. Síntesi dels compostos de platí	29
2.2.2.1. Obtenció del complex 5	30
2.2.2.2. Obtenció del complex 6	32
2.3. Síntesi del compost 9	34
2.3.1. Síntesi del lligand 8	34
2.3.1.1. Amidació de l'àcid ftàlic i reducció a amina.	
Obtenció dels compostos 7 i 8	35

2.3.2. Síntesi dels compostos de platí	36
2.4. Síntesi del compost 13	37
2.4.1. Síntesi dels lligands 12 i 15	37
2.4.1.1. Reacció de Diels Alder. Obtenció del compost 10	38
2.4.1.2. Amidació del clorur d'àcid. Obtenció dels compostos 11 i 14	41
2.4.1.3. Reducció a amina. Obtenció dels compostos 12 i 15	43
2.4.1.4. Proves d'oxidació de l'alcohol al·lílic, 12	44
2.4.2. Síntesi dels compostos de platí	45
2.4.2.1. Obtenció del complex 13	46
2.4.2.2. Proves de coordinació del lligand 15	47
2.5. Resum del capítol	47

Capítol 3. Síntesi de diamines bicíclics i els seus complexos de platí(II)

3.1. Introducció	49
3.2. Síntesi dels compostos de platí (II) amb lligands bicíclics	50
3.2.1. Síntesi dels lligands bicíclics	50
3.2.1.1. Reacció de Diels Alder	51
3.2.1.2. Reducció dels grups nitril	52
3.2.1.3. Hidrogenació catalítica del doble enllaç	54
3.2.2. Síntesi dels compostos de platí	55
3.2.2.1. Obtenció dels complexos 27, 28, 29 i 30	55
3.2.2.2. Obtenció dels complexos 31, 32 i 33	56
3.3. Proves amb altres diens	57
3.3.1. Reacció de Diels Alder. Obtenció del cicloadducte 34	58
3.3.2. Desprotecció del grup hidroxil. Obtenció del compost 35	58
3.3.3. Reducció dels grups nitril. Obtenció de l'amina 36	63
3.4. Resum del capítol	64

Capítol 4. Síntesi de diamines monocíclics i els seus complexos de platí(II)

4.1. Introducció	65
4.2. Síntesi dels compostos 43 i 44	66
4.2.1. Síntesi dels lligands	66
4.2.1.1. Reacció de Diels Alder i hidrogenació catalítica del doble enllaç. Obtenció dels compostos 37 i 39	67
4.2.1.2. Desprotecció del grup hidroxil. Obtenció dels compostos 38 i 40	69
4.2.1.3. Reducció dels nitrils a amines. Obtenció dels compostos 41 i 42	76
4.2.2. Síntesi dels compostos de platí	79
4.2.2.1. Obtenció del complex 43	79

4.2.2.2. Obtenció dels complexos 44a i 44b	80
4.3. Proves de derivatització del grup hidroxil	81
4.3.1. Síntesi dels lligands	81
4.3.1.1. Reacció de metilació. Obtenció dels compostos 45 i 46	82
4.3.1.2. Protecció de l'alcohol amb metoximetil. Obtenció dels compostos 47 i 48	86
4.3.1.3. Intents de protecció de l'alcohol en C3 en forma de lauril èter o dodecil	87
4.3.1.4. Reducció dels nitrils a amines	88
4.3.2. Síntesi dels compostos de platí	91
4.4. Síntesi dels compostos 64 , 65	91
4.4.1. Síntesi dels lligands	91
4.4.1.1. Reacció de Diels Alder i desprotecció del grup hidroxil. Obtenció dels compostos 53 i 54	92
4.4.1.2. Reacció de metilació, reducció del grup ester i hidrogenació catalítica del doble enllaç. Obtenció dels compostos 55 , 56 i 57	96
4.4.1.3. Reacció de mesilació. Obtenció dels compostos 58 i 59	97
4.4.1.4. Reacció d'azidació i reducció a amina. Obtenció dels compostos 60 , 61 , 62 i 63	98
4.4.2. Síntesi dels compostos de platí	100
4.4.2.1. Síntesi dels complexos 64 i 65	100
4.5. Síntesi dels compostos 71 , 72 i 74	102
4.5.1. Síntesi del lligand 70	102
4.5.1.1. Reacció d'esterificació i reducció de l'ester a alcohol. Obtenció dels compostos 66 i 67	102
4.5.1.2. Reaccions de mesilació, azidació i reducció a amina. Obtenció dels compostos 68 , 69 i 70	103
4.5.2. Síntesi dels compostos de platí	104
4.5.2.1. Obtenció del complex 71	104
4.5.2.2. Obtenció del complex 72	105
4.5.2.3. Obtenció del complex 74	105
4.6. Resum del capítol	106

Capítol 5. Estudis d'interacció amb el DNA

5.1. Introducció	109
5.2. Dicroïsm circular	110
5.2.1. Introducció a la tècnica	110
5.2.2. Resultats i discussió	113
5.2.2.1. Complexos 5 i 6	113
5.2.2.2. Complexos amb lligands bicíclics	115
5.2.2.3. Complexos amb lligands monocíclics	117
5.2.2.4. Recapitulat	120

5.3. Electroforesi	121
5.3.1. Introducció a la tècnica	121
5.3.2. Resultats i discussió	122
5.3.2.1. Complexos 5 i 6	123
5.3.2.2. Complexos amb lligands bicíclics	124
5.3.2.3. Complexos amb lligands monocíclics	125
5.3.2.4. Recapitulant	126
5.4. Microscòpia de forces atòmiques	126
5.4.1. Introducció a la tècnica	126
5.4.2. Resultats i discussió	128
5.4.2.1. Complexos 5 i 6	129
5.4.2.2. Complexos amb lligands bicíclics	130
5.4.2.3. Complexos amb lligands monocíclics	132
5.4.2.4. Recapitulant	134
5.5. Resum del capítol	135

Capítol 6. Estudi de la citotoxicitat

6.1. Introducció	137
6.2. Resultats i discussió	138
6.2.1. Citotoxicitat dels complexos 5 i 6	138
6.2.1.1. Complex 5	139
6.2.1.2. Complex 6	140
6.2.2. Citotoxicitat dels complexos amb lligands bicíclics i monocíclics	141
6.3. Resum del capítol	144

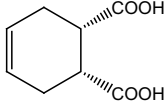
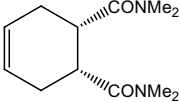
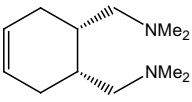
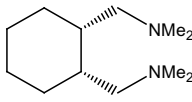
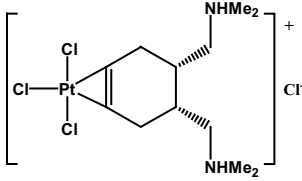
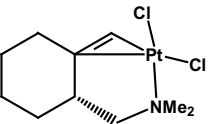
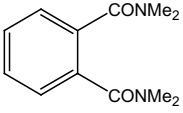
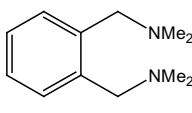
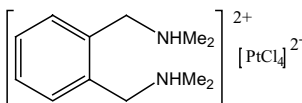
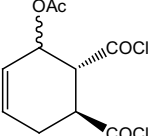
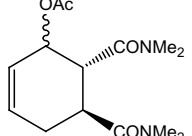
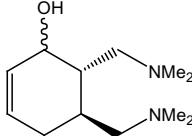
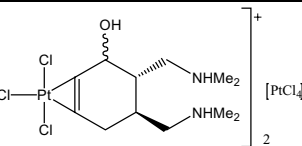
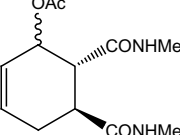
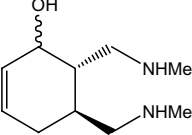
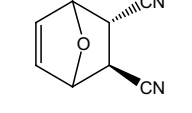
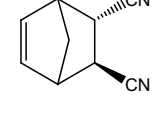
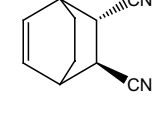
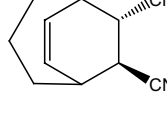
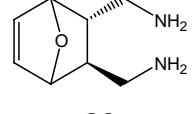
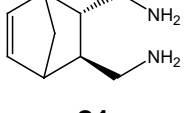
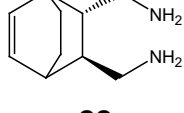
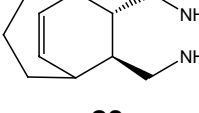
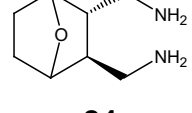
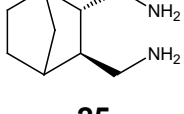
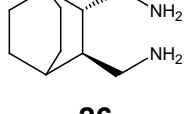
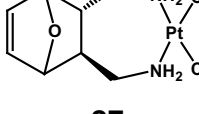
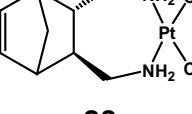
Capítol 7. Resum i conclusions

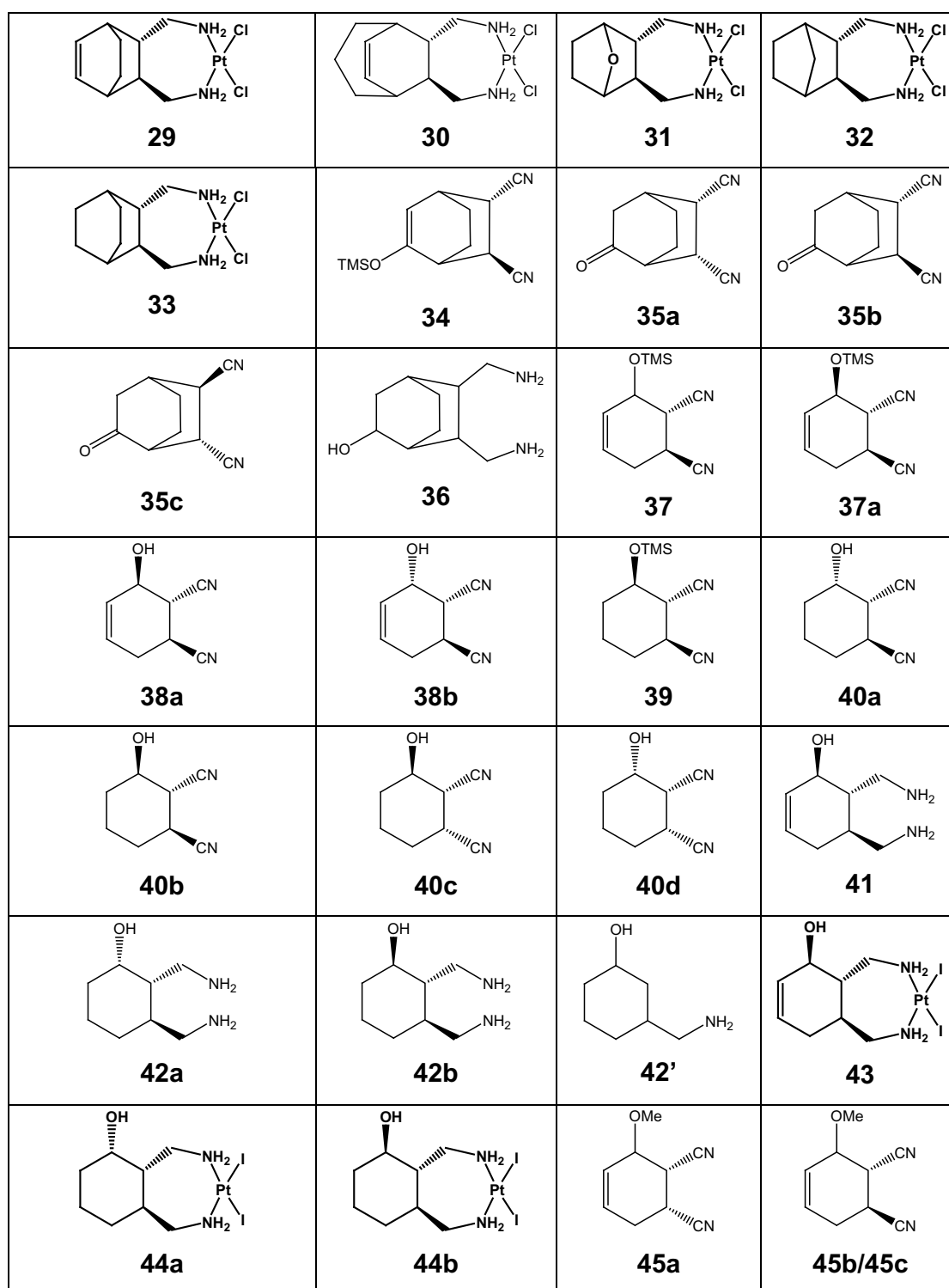
7.1. Resum i conclusions	147
--------------------------	-----

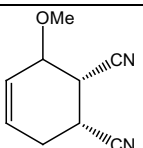
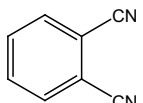
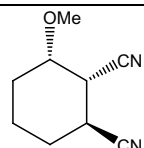
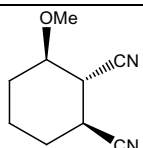
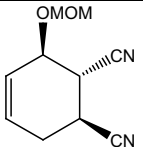
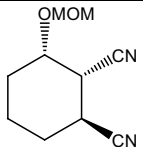
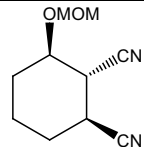
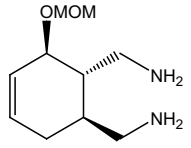
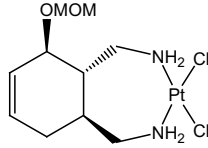
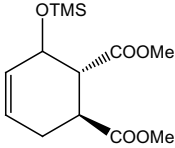
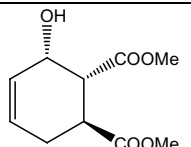
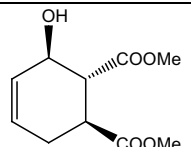
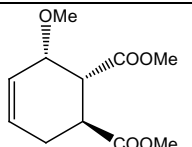
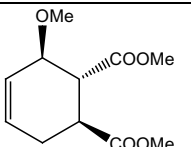
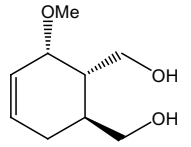
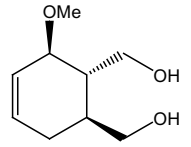
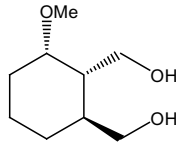
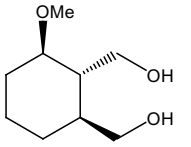
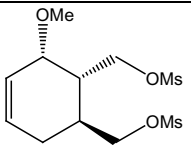
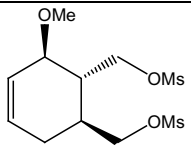
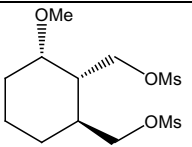
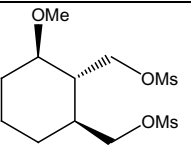
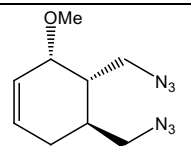
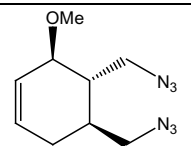
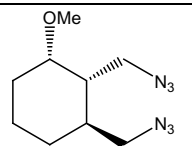
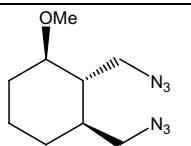
Capítol 8. Materials i procediments experimentals

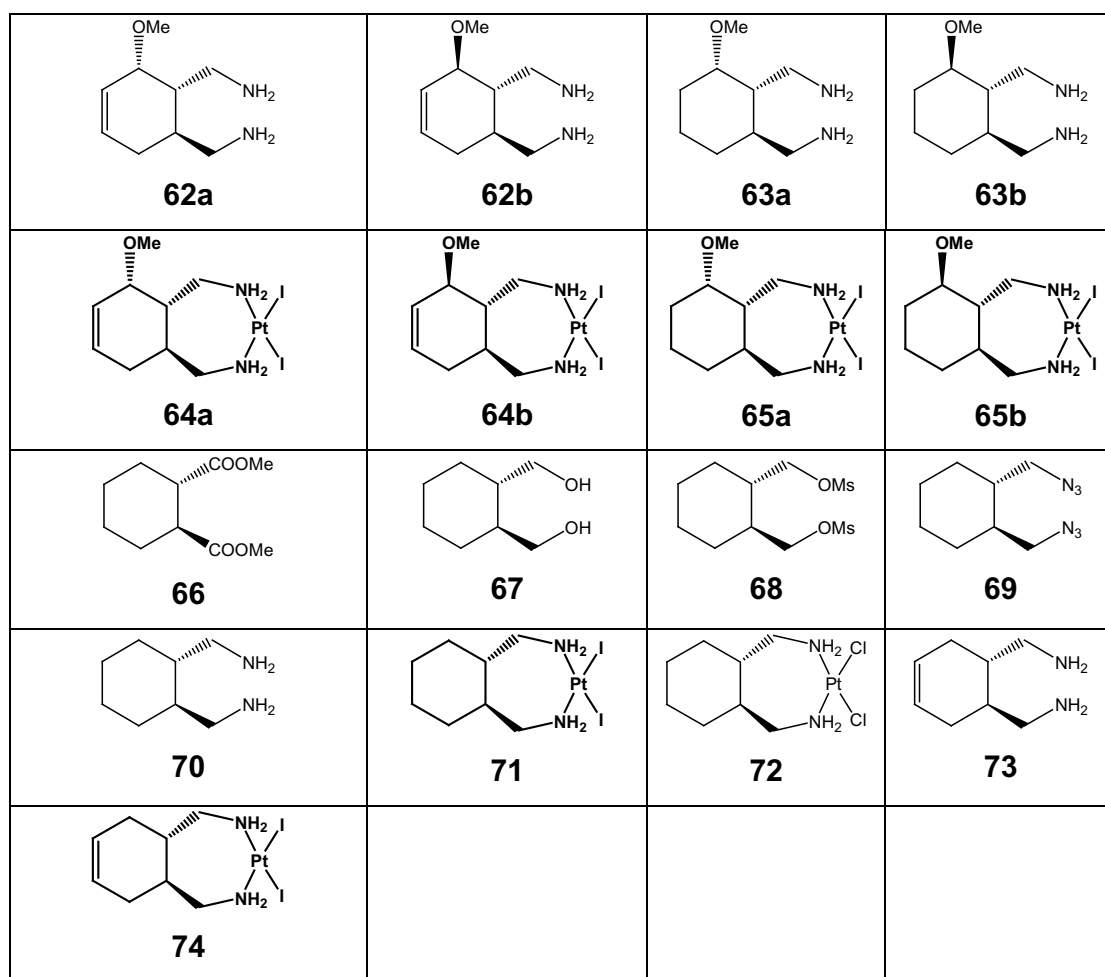
8.1. Materials i mètodes per a la síntesi i caracterització dels compostos	151
8.2. Síntesi i caracterització dels compostos	153
8.3. Materials i mètodes per als estudis d'interacció amb el DNA	204
8.4. Preparació de mostres dels estudis d'interacció amb el DNA	205
8.5. Materials i mètodes per als assaigs in vitro d'activitat antiproliferativa	207
8.6. Preparació de mostres per als assaigs in vitro d'activitat antiproliferativa	207

Índex de compostos

 <p style="text-align: center;">1</p>	 <p style="text-align: center;">2</p>	 <p style="text-align: center;">3</p>	 <p style="text-align: center;">4</p>
 <p style="text-align: center;">5</p>	 <p style="text-align: center;">6</p>	 <p style="text-align: center;">7</p>	 <p style="text-align: center;">8</p>
 <p style="text-align: center;">9</p>	 <p style="text-align: center;">10</p>	 <p style="text-align: center;">11</p>	 <p style="text-align: center;">12</p>
 <p style="text-align: center;">13</p>	 <p style="text-align: center;">14</p>	 <p style="text-align: center;">15</p>	 <p style="text-align: center;">16</p>
 <p style="text-align: center;">17</p>	 <p style="text-align: center;">18</p>	 <p style="text-align: center;">19</p>	 <p style="text-align: center;">20</p>
 <p style="text-align: center;">21</p>	 <p style="text-align: center;">22</p>	 <p style="text-align: center;">23</p>	 <p style="text-align: center;">24</p>
 <p style="text-align: center;">25</p>	 <p style="text-align: center;">26</p>	 <p style="text-align: center;">27</p>	 <p style="text-align: center;">28</p>



 <p>45d</p>	 <p>45'</p>	 <p>46a</p>	 <p>46b</p>
 <p>47</p>	 <p>48a</p>	 <p>48b</p>	<p>$C_{12}H_{25}OTs$</p> <p>49</p>
<p>$C_{12}H_{25}I$</p> <p>50</p>	 <p>51</p>	 <p>52</p>	 <p>53</p>
 <p>54a</p>	 <p>54b</p>	 <p>55a</p>	 <p>55b</p>
 <p>56a</p>	 <p>56b</p>	 <p>57a</p>	 <p>57b</p>
 <p>58a</p>	 <p>58b</p>	 <p>59a</p>	 <p>59b</p>
 <p>60a</p>	 <p>60b</p>	 <p>61a</p>	 <p>61b</p>



Abreujaments

brs	<i>broad singlet</i> . Singlet de banda ampla
C	conversió
CG	cromatografia de gasos
CI	ionització química
d	doblet
DC	dicroïsme circular
DEPT	<i>Distortionless Enhancement by Polarization Transfer</i>
DMF	dimetilformamida
DMSO	dimetilsulfòxid
DNA	àcid desoxiribonucleic
EF	electroforesi
EM	espectrometria de masses
eq	equivalents
ES	electroesprai
FAB	<i>Fast Atom Bombardment</i>
HSQC	<i>Heteronuclear Single Quantum Correlation</i>
IR	infraroig
m	multiplet
NBA	nitrobenzoalcohol
ppm	parts per milió
R	rendiment
r_i	raó molar de metall introduïda per nucleòtid
RMN	ressonància magnètica nuclear
RNA	àcid ribonucleic
s	singlet
st	tensió
THF	tetrahidrofurà
TMAFM	microscòpia de forces atòmiques (<i>tapping mode</i>)
δ	desplaçament químic (ppm)
λ	longitud d'ona
ν	nombre d'ona (cm^{-1})
Θ	el·lipticitat molar

I. Introducció i objectius
