



**DISSENY I SÍNTESE DE L·LIGANDS I
COMPLEXOS DE PLATÍ I ESTUDI
DE LA SEVA ACTIVITAT
ANTITUMORAL**

TESI DOCTORAL

Jordi de Mier Vinué

Febrer de 2007

I.-INTRODUCCIÓ I OBJECTIUS

I.-INTRODUCCIÓ I OBJECTIUS

EL CÀNCER

Actualment, el càncer és una de les malalties amb major incidència en la població occidental. Es caracteritza per dos processos, en els primers estadis de la malaltia, es produeix el creixement incontrolat d'un grup de cèl·lules, formant un tumor. Si aquest tumor no adquireix una capacitat invasiva respecte a d'altres teixits del cos, es parla d'un tumor benigne, que es pot curar quirúrgicament per extirpació. En canvi, si les cèl·lules tumorals adquireixen la capacitat d'envair altres teixits per mitjà del torrent circulatori es dona un segon procés conegut com a metàstasi i parlarem llavors d'un tumor maligne. La metàstasi consisteix en la formació de diversos tumors secundaris en altres teixits corporals i la proliferació d'aquests tumors és una de les principals causes dels problemes en el tractament del càncer i, per tant, de la seva alta mortalitat.

Per a què s'origini un tumor és necessari que hi hagi una acumulació successiva d'alteracions en els gens d'una cèl·lula, aquestes alteracions en el material genètic han de proporcionar un avantatge en quant al creixement, de tal forma que les cèl·lules alterades presentin una velocitat de creixement major que possibiliti la seva selecció en el teixit i acabi produint un tumor. Per tant, el càncer és una malaltia genètica, en el sentit que prové d'alteracions en el material genètic que es transmeten en la replicació de les cèl·lules.

Es coneixen molt agents susceptibles d'originar mutacions en els nostres gens; principalment aquestes s'originen degut a canvis en l'estructura i l'agrupament de l'àcid desoxirribonucleic (DNA) que forma el nostre codi genètic. Els agents químics són els responsables de més del 80% dels càncers; l'activitat industrial produeix diversos agents cancerígens (com el clorur de vinil o les nitrosoamines) tot i que es coneixen també productes naturals amb activitat carcinogènica. El mecanisme de tots aquests agents es basa en la interacció amb el DNA, fet que provoca malformacions estructurals que originen les mutacions. També diversos tipus de radiacions poden induir canvis mutagènics en incidir sobre el DNA, aquests canvis poden ser deguts a trencaments de la cadena o a la formació d'enllaços covalents entre bases, les més conegudes són les radiacions ultravioletes solars, però també les radiacions ionitzants poden provocar processos mutagènics. Finalment, alguns tipus de virus també poden produir càncer en

infectar el DNA cel·lular amb material genètic que presenti gens capaços de desenvolupar tumors en les cèl·lules infectades¹.

I.1.-LA LLUITA CONTRA EL CÀNCER

Amb l'avenç de la incidència del càncer s'han desenvolupat tot un conjunt de tècniques per combatre'l i, en darrera instància, destruir-lo. La principal complicació en el tractament del càncer rau en el fet que és necessària l'eliminació de totes les cèl·lules cancerígenes, ja que si en queda una petita quantitat, es pot tornar a generar el tumor. La segona complicació és la, en general, falta d'especificitat dels tractaments contra el càncer degut a que en les cèl·lules tumorals no existeixen processos ni molècules molt diferents de les de les cèl·lules normals. Els mètodes utilitzats actualment per combatre el càncer són els següents:

-Extirpació quirúrgica: Consisteix en eliminar físicament el tumor, és el mètode més efectiu si s'ha diagnosticat a temps, tot i que és difícil que no es produeixin fenòmens de metàstasi encara que siguin de poca intensitat.

-Radioteràpia: Té com a objectiu evitar la proliferació de cèl·lules tumorals a partir de la seva irradiació amb raigs X o raigs γ . Tot i que cada cop hi ha un major desenvolupament de la tècnica, presenta problemes d'efectes secundaris amb les cèl·lules sanes veïnes. S'acostuma a utilitzar en combinació amb la cirurgia o la quimioteràpia.

-Teràpia hormonal: Hormones com els andrògens i els estrògens poden promoure la proliferació de les cèl·lules tumorals en alguns tipus de càncers (com el prostàtic o el de pit). Els tractaments dissenyats pe inhibir l'acció d'aquestes hormones donen respostes positives en el tractament de determinats tumors.

-Quimioteràpia: Es basa en l'ús d'agents químics citotòxics per a destruir les cèl·lules cancerígenes. El desenvolupament de nous agents anticancerígens consisteix un camp d'important desenvolupament en la química mèdica i se'n parlarà més abastament en següents capítols. El fet de que en les cèl·lules cancerígenes no hi hagi un control del creixement i es realitzi una divisió cel·lular excessiva (major proporció de cèl·lules en

¹ Muñoz, A., *Càncer Genes y Nuevas Terapias*, Ed. Hélice, Madrid, 1997.

estat de mitosi) fa que la majoria dels fàrmacs emprats tinguin com a diana el DNA o enzims relacionats amb la replicació d'aquest².

No obstant, val a dir que la millor arma contra el càncer és la prevenció, i es pensa que l'adopció d'uns certs hàbits saludables (no fumar, tenir una dieta equilibrada rica en verdures, moderar l'exposició solar...) per part de la població faria disminuir de forma important la incidència d'aquesta malaltia³.

I.1.1.-QUIMIOTERÀPIA

Històricament, l'obtenció i estudi de nous agents anticancerígens s'ha abordat amb diverses aproximacions; des d'estudis racionals (com seria el cas del 5-fluorouracil, a partir de la modificació d'una base nitrogenada) o observacions empíriques de les característiques citotòxiques de determinades molècules. Altres camps de recerca com l'obtenció de compostos a partir de l'estudi de diversos productes naturals també han donat bons resultats (com en el cas del taxol, un diterpè present en un arbre de la família de les taxàcies)⁴. Actualment, amb l'avenç de la biomedicina, l'estudi dels diversos mecanismes de resistència i la forma de superar-los, així com l'obtenció de nous fàrmacs que presentin una millor farmacocinètica (especialment que es puguin administrar per via oral i presentin una bona absorció), centra part de l'interès científic⁵. Existeix actualment gran varietat de fàrmacs utilitzats hospitalàriament per combatre el càncer. La seva diversitat estructural és gran (Figura I.2) i moltes vegades s'empren combinacions de diferents fàrmacs per augmentar l'efectivitat del tractament. Agrupats pel seu mecanisme d'acció⁶, els grups més importants d'agents quimioterapèutics són:

-Antimetabolits: Són molècules amb una estructura similar a la de productes cel·lulars necessaris per la divisió i creixement cel·lular. S'origina doncs una

² (a) Devlin, T. M., *Bioquímica*, ed. Reverté, Barcelona, **2004**. (b) Ruddon, R. W., *Cancer Biology*, Oxford University Press, Nova York, **1995**. (c) Macdonald, F.; Ford, C. H. J.; Casson, A. G., *Molecular Biology of Cancer*, BIOS Scientific Publishers, Nova York, **2004**.

³ Argiles, J.M.; López-Soriano, F.J., *El Càncer y Su Prevención*, Edicions Universitat de Barcelona, col·lecció Omnia, Barcelona, **1998**.

⁴ Foye, W.O., *Cancer Chemotherapeutic Agents*, ACS Professional Science Book, Washington, **1995**.

⁵ (a) Schelens, H.M.; Malingré, M.M.; Kruijtzter C.M.F.; Bardelmeijer, H.A.; Telling, O.; Schinkel A.H.; Beijnen, J.H., *Eur. J. Pharm. Sciences* **2000**, *12*, 103-110. (b) Broxterman, H.J.; Georgopapadaku, N., *Drug Resistance Updates* **2001**, *4*, 197-209. (c) Boulamwini, J.K., *Current Opinion in Chemical Biology* **1999**, *3*, 500-509. (d) Felici, A.; Verweij, J.; Sparreboom, A., *Eur. J. Cancer* **2002**, *38*, 1677-1684.

⁶ Bishop, J.F., *Cancer Facts, a Concise Oncology Text*, Harwood Academic Publishers, Amsterdam, **1999**.

competència entre el producte natural i el fàrmac provocant la inhibició d'enzims o la presència de seqüències errònies en les cadenes de DNA i RNA. Alguns exemples d'aquest tipus de fàrmacs són el metotrexà o el 5-fluorouracil.

-Agents alquilants del DNA: Són compostos molt electròfils que poden reaccionar amb nucleòfils per formar unions covalents⁷. En el DNA, una de les posicions més nucleòfiles és el nitrogen 7 de les guanines. Els agents alquilants que presenten dues posicions reactives són capaços de formar enllaços amb dues guanines properes en l'espai causant creuaments i torsions que porten a canvis en l'estructura secundària de l'hèlix. Alguns fàrmacs que actuen d'aquesta forma són les ciclofosfamides o el cisplatí.

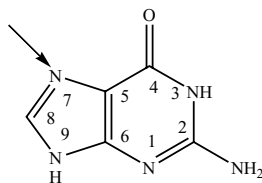


Figura I.1. Estructura i numeració de la guanina.

-Fàrmacs que interfereixen en la reproducció cel·lular: Actuen bloquejant el cicle cel·lular normal i impedit-ne la mitosi. Interaccionen amb la tubulina condicionant la seva polimerització, afectant així la formació dels microtúbuls, estructures necessàries en la reproducció cel·lular. Exemples d'aquests fàrmacs són la vincristina o el taxol.

-Agents que actuen per escissió de la cadena de DNA: El seu mecanisme d'actuació porta al trencament oxidatiu de les cadenes de DNA amb la intervenció d'O₂ i Fe(II) mitjançant un mecanisme radicalari. La bleomicina, una glicoproteïna d'origen bacterià, n'és l'exemple més important.

⁷ Patrick, G.L., *An Introduction to Medicinal Chemistry*, Oxford University Press, 2^a ed., Londres, 2001.

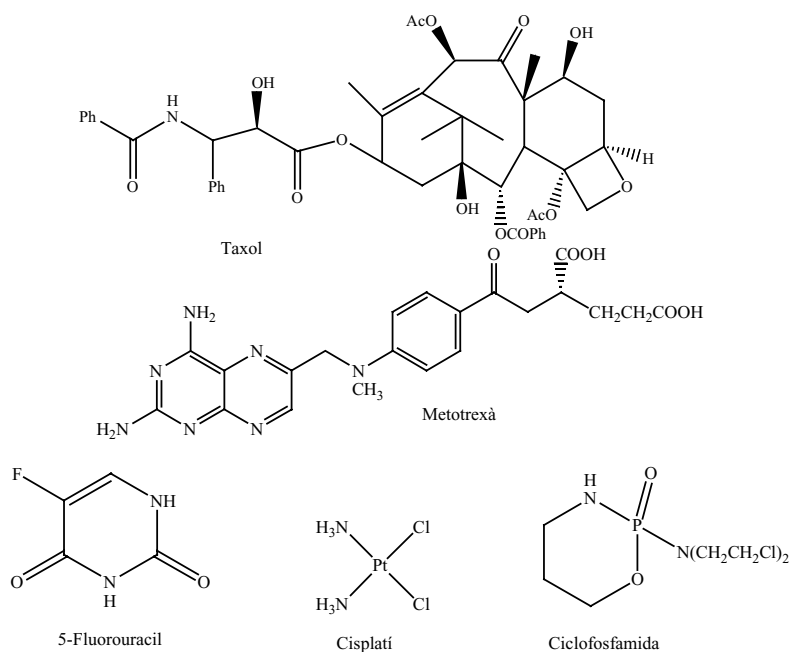


Figura I.2. Estructures d'alguns fàrmacs anticancerígens

I.1.2.-EL CISPLATÍ

Un dels fàrmacs més utilitzats en el tractament de certs càncers és el *cis*-diamminadicloroplatí o cisplatí. Les propietats d'aquesta molècula com a modificadora del creixement cel·lular foren inicialment observades de forma casual per Rosenberg⁸. Com ja s'ha comentat, el seu mecanisme d'acció es basa en la formació d'unions covalents amb les bases del DNA, especialment amb la guanina. Un cop el cisplatí és administrat al pacient, la molècula arriba a la cèl·lula a través del torrent circulatori i hi penetra, sense alterar-se, per difusió passiva (tot i que alguns autors recentment també han proposat la intervenció de proteïnes de membrana transportadores de coure en l'entrada del cisplatí al medi cel·lular⁹). En el citoplasma, on la concentració d'ions clorur és menor que en el torrent circulatori, la molècula s'hidrolitza i, genera, principalment, l'espècie monohidratada *cis*-[PtCl(H₂O)(NH₃)₂]⁺¹⁰. Aquesta espècie (així com la dihidratada) es troba activada respecte la molècula neutra i presenta una reactivitat major, podent reaccionar amb un gran nombre de biomolècules (DNA, RNA, proteïnes, fosfolípids, molècules amb grups tiol...). Aproximadament el 1 % del cisplatí

⁸ (a) Rosenberg, B.; Van Camp, L.; Krigas, T., *Nature* **1965**, *205*, 698-699. (b) Rosenberg, B.; Van Camp, L.; Trosko, J.E.; Mansour, V.H., *Nature* **1969**, *222*, 385-386

⁹ Wang, D.; Lippard, S. J., *Nature Rev. Drug Discovery* **2005**, *4*, 307-320.

¹⁰ Jamieson, E.R.; Lippard, S.J; *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 2467-2498.

intracel·lular interacciona amb el DNA nuclear¹¹, principalment, amb el N-7 de la guanina podent donar lloc a diversos adductes (Figura I.3). Dels adductes possibles, s'ha calculat¹² que entre un 80 i 90% són bifuncionals intracatenaris (casos (b) i (c) en la Fig. I.3), en seqüències del tipus GG, GA, o GNG (G=guanina, A=adenina, N=qualsevol base). També es formen, en menor proporció, adductes intercatenaris (amb dos residus de diferents cadenes del DNA (a)) i adductes monofuncionals amb el fàrmac unit també a proteïnes (d).

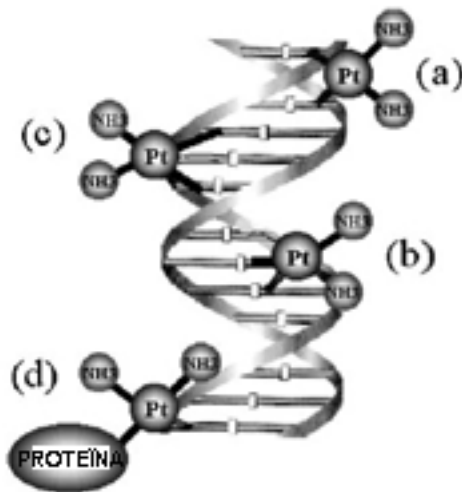


Figura I.3. Modes de coordinació del cisplatí al DNA: intercatenari (a), 1,2 intracatenari (b), 1,3 intracatenari (c) i unió monofuncional d'un adducte del cisplatí amb una proteïna (d).

La formació d'aquest tipus d'adductes comporta el plegament de l'hèlix i la distorsió de l'estructura secundària i terciària d'aquesta. Aquest canvi en l'estructura interfereix en el cicle cel·lular, tot i que encara no està molt clar el mecanisme pel qual els adductes de DNA amb cisplatí són letals per a la cèl·lula. Es pensa que, més que en la pròpia replicació del DNA, els adductes de platí juguen un paper clau en el bloqueig de la síntesi de noves proteïnes (transcripció) i que és en aquest punt on es posa de manifest la toxicitat del fàrmac evitant la producció de proteïnes necessàries per la divisió cel·lular¹³. El mecanisme que porta a la mort cel·lular encara no està clar; hi ha diverses proteïnes que poden reconèixer el DNA modificat pel cisplatí i interaccionar amb ell portant a diferents resultats en la viabilitat cel·lular¹¹: a) les proteïnes reparadores per escissió del nucleòtid (*nucleotide excision repair*, NER) b) proteïnes reparadores per desaparellament (*mismatch repair*, MMR) c) les quinases dependents del DNA (DNA-PK) i d) les proteïnes amb grups d'alta mobilitat (*high mobility group*,

¹¹ González, V. M.; Fuertes, M. A.; Alonso, C.; Pérez, J. M., *Mol. Pharmacol.* **2001**, *59*, 657-663.

¹² Schepman, A.M.; Veer, J.L.; Hartog, J.H.; Lohman, P.H.; Reedijk, J. *Biochemistry* **1985**, *24*, 707-713.

¹³ Sorenson, C.M.; Eastman, A., *Cancer Res.* **1988**, *48*, 4484-4488.

HMG). Les proteïnes NER poden reparar els adductes de cisplatí-DNA evitant així l'actuació del fàrmac. La funció de les proteïnes MMR en el mecanisme d'acció del cisplatí no està clara, interaccionen amb la filera del DNA complementària a la que ha interaccionat amb el cisplatí, i es creu que aquesta interacció pot induir l'apoptosi. Les proteïnes del grup DNA-PK són també un sistema de reparació que, per exemple pot reparar trencaments de l'hèlix induïts per radiacions ionitzants. Es creu que les proteïnes amb dominis HMG (*High Mobility Group*), juguen un paper clau en la modulació de les capacitats citotòxiques del cisplatí^{10,14}.

Els dominis HMG són unes estructures proteïques formades per tres hèlixs α adoptant una forma d'L amb dues superfícies d'unió al DNA¹⁵. Aquests dominis HMG en interaccionar amb els segments platinats del DNA, provoquen un encapsulament d'aquest segment per part de la proteïna evitant així la intervenció d'agents reparadors del DNA com el NER. La unió del DNA platinat a les proteïnes HMG pot portar a un procés d'apoptosi o mort cel·lular programada (degut a les interaccions existents entre les proteïnes HMG i proteïnes eliminadores de tumor com la p53)⁹. El procés d'apoptosi porta a la condensació del nucli i la reducció de la membrana cel·lular fins que la cèl·lula és fagocitada¹⁶. Aquest tipus de mort cel·lular és diferent de la necrosi, en la qual hi ha un trencament de la membrana cel·lular degut a un increment de la pressió osmòtica provocant que els components cel·lulars quedin en l'espai intercel·lular. Aquest procés es pot donar en cèl·lules sotmeses a altes dosis del fàrmac¹⁷.

Així, les respostes que pot donar lloc la interacció amb el DNA i el cisplatí són dependents de diversos factors i complexos nuclears i, com veurem, podran originar a diferents respostes per part de les cèl·lules cancerígenes.

I.1.2.1.-NECESSITAT I DESENVOLUPAMENT DE NOUS FÀRMACS DE PLATÍ

Una de les principals dificultats que presenta el tractament amb cisplatí és el desenvolupament de tot un seguit de mecanismes de resistència per part de la cèl·lula que provoquen la pèrdua d'efectivitat del fàrmac¹⁸:

¹⁴ Reedijk, J., *Chem. Commun.* **1996**, 801-806.

¹⁵ Jordan, P.; Carmo-Fonseca, M., *Cell. Mol. Life. Sci.* **2000**, 57, 1229-1235.

¹⁶ Kim, R.; Tanabe, K.; Uchida, Y.; Emi, M.; Inoue, H.; Toge, T., *Cancer Chemother. Pharmacol.* **2002**, 50, 343-352.

¹⁷ González, V. M.; Fuertes, M.A.; Alonso, C.; Pérez, J.M., *Mol. Pharmacol.* **2001**, 59, 657-663.

¹⁸ Fuertes, M.A.; Alonso, C.; Pérez, J.M., *Chem. Rev.* **2003**, 103, 645-662.

-Reducció de la concentració de fàrmac en el medi cel·lular i unió a residus de sofre: En alguns models de cèl·lules resistents al cisplatí s'ha observat que la penetració d'aquest en el citosol és molt inferior respecte a les cèl·lules sensibles al fàrmac. De la mateixa manera, la unió del cisplatí a molècules que tenen àtoms de sofre pot portar a la inactivació del fàrmac. Especialment la interacció del cisplatí amb el glutatió (un tripèptid d'estructura γ -GluCysGly, Figura I.1.4) dóna lloc a un compost que és ràpidament eliminat del medi cel·lular. També la unió a metal·lotioneïnes (proteïnes de reserva d'àtoms metàl·lics, molt riques en cisteïnes), s'ha postulat com una causa de la inactivació del fàrmac. Per altra banda, també s'ha suggerit que la unió del platí a molècules amb sofre pot ésser utilitzada com a una reserva del fàrmac i que, fins i tot, adductes entre el cisplatí i residus de metionina podrien intervenir en el transport del fàrmac fins el nucli i augmentar-ne la seva reactivitat¹⁹.

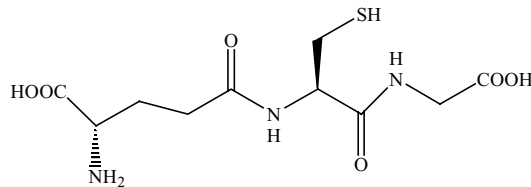


Figura I.4. Estructura del glutatió.

-Reparació de les lesions sofertes en el DNA: En el nucli hem vist que hi ha presents diversos complexos proteics capaços de reconèixer i eliminar els adductes formats pel cisplatí. La presència d'una major proporció de complexos com el NER, capaç de reconèixer els adductes intracatenaris, hidrolitzar els enllaços fosfodièster del sector lesionat i promoure la síntesi del segment de cadena eliminat, en front de proteïnes com les HMG portarà al desenvolupament d'una alta resistència en vers el fàrmac.

-Inactivació de l'apoptosi: El procés d'apoptosi està regulat per una sèrie de gens que depenen de senyals pro- i antiapoptòtiques. Així, la modulació d'aquestes senyals per part d'altres factors cel·lulars pot donar lloc a una major resistència.

Com es pot veure, hi ha diversos factors que poden provocar la resistència al cisplatí i, de fet, aquesta acostuma a ser un mecanisme multifactorial. Un altre dels problemes que presenta el cisplatí és la seva toxicitat; a part de provocar nàusees i vòmits, el cisplatí presenta una alta nefrotoxicitat (que es pot paliar parcialment amb l'ús de solucions salines) i neurotoxicitat (sobretot si és administrat conjuntament amb paclitaxel),

¹⁹ Brabec, V.; Kasparkova, J., *Drug Resistance Updates* **2002**, 5, 147-161.

aquests factors fan que s'hagi d'administrar en dosis molt limitades i, per tant, la seva efectivitat quedi compromesa²⁰. Totes aquestes raons fan que la recerca de nous composts de platí actius estigui molt desenvolupada.

Actualment s'estudien molts patrons estructurals que difereixen dels model clàssic del cisplatí. Alguns dels exemples d'estructures de més interès²¹ (Figura 5):

-Carboplatí i anàlegs: Són compostos que presenten com a lligand un grup ciclobutandicarboxílic a part dels lligands nitrogenats. En el cas del carboplatí, aquesta estructura presenta una menor toxicitat i permet superar alguns problemes de resistència vers el cisplatí.

-Complexos amb lligands diaminat: La substitució de les amines per lligands diaminat més complexos (el 1,2-diaminociclohexà en l'oxaliplatí o el 1,2-diaminometilciclobutà en el lobaplatí) porta a superar alguns problemes de resistència creuada gràcies a la presència d'aquests lligands quelatants.

-Complexos de platí(IV) solubles en aigua: La recerca de fàrmacs de platí que es puguin administrar oralment ha estat un camp d'estudi important degut als avantatges que comporta en l'administració de la dosi. S'han trobat exemples (com el JM216) amb activitat similar al cisplatí i amb una menor nefro- i neurotoxicitat.

-Compostos multinuclears²²: Acostumen a ser composts actius a dosis molt menors que el cisplatí, tot i que la toxicitat que presenten actualment és massa alta per utilitzar-los clínicament.

-Compostos amb geometria *trans*²³: Determinats compostos que tenen dos lligands aminats en geometria *trans* presenten activitat anticancerígena prometedora per mecanismes d'interacció amb el DNA diferents als dels compostos clàssics de platí.

-Complexos amb lligands voluminosos: La presència de lligands amb major impediment estèric es creu que dificulta la inactivació del platí per reacció amb compostos amb sofre. El compost ZD0473 presenta activitat en línies cel·lulars que han desenvolupat resistència al cisplatí.

-Complexos amb lligands bioactius: S'han desenvolupat compostos, com l'anilinoacridina que presenten lligands capaços d'intercalar-se entre les bases de DNA, d'aquesta forma se sumen els dos efectes per produir dobles mecanismes d'acció.

²⁰ Piccart, M.J.; Lamb, H.; Vermorken, J.B., *Annals of Oncology*, **2001**, *12*, 1195-1203.

²¹ (a) Ho, Y.; Au-Yeung, S.C.; To, K.K., *Med. Res. Rev.*, **2003**, *23*, 633-655. (b) Wong, E.; Giandomenico, C. M., *Chem. Rev.*, **1999**, *99*, 2451-2466.

²² Wheate, N.J.; Collins, J.G.; *Coord. Chem. Rev.*, **2003**, *241*, 133-145.

²³ Pérez, J.M.; Fuertes, M.A.; Alonso, C.; Navarro-Raninger, C., *Critical Reviews in Oncology/hematology*, **2000**, *35*, 109-120.

Molts d'aquests compostos han iniciat proves clíniques, però actualment, els únics en els que ha estat aprovada la seva administració clínica són el carboplatí, l'oxaliplatí, el lobaplatí i el nedaplatí²⁴.

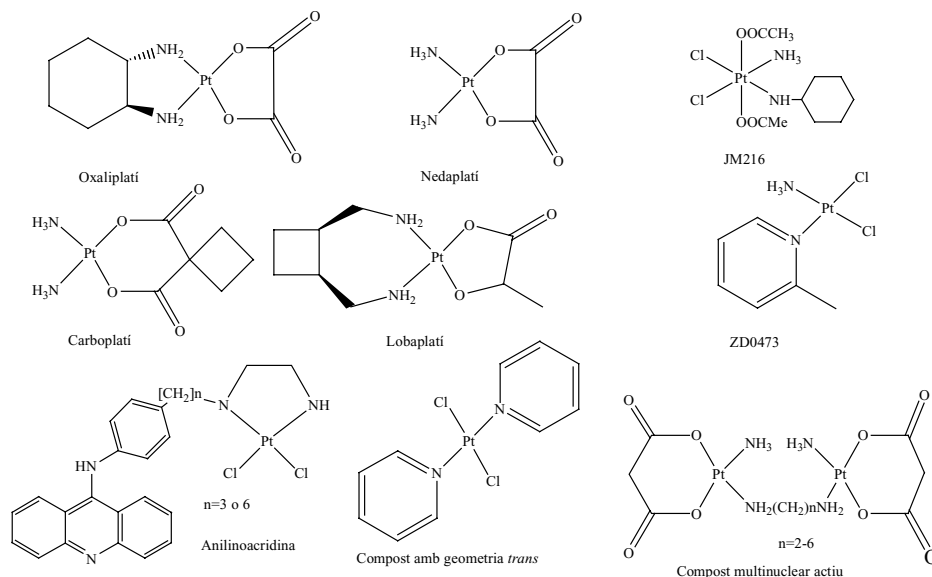


Fig. I.5. Compostos de platí amb activitat anticancerígena

I.1.3.-RELACIONS ESTRUCTURA-ACTIVITAT EN COMPLEXOS DE PLATÍ²⁵

Des del descobriment de les activitats terapèutiques del cisplatí, hi ha hagut un interès en obtenir una relació clara entre estructura del fàrmac i activitat biològica (SAR). Per dur a terme aquests estudis es fa necessari un estudi racional de famílies de molècules, on les diferències estructurals siguin mínimes, de tal forma que es puguin així relacionar els canvis produïts en l'activitat dels diferents compostos. Ja en els anys setanta Clearer i Hoeschele²⁶ van fer una primera anàlisi d'aquest tipus estudiant una família de complexos plano-quadrats de platí(II) tipus $[PtX_2A_2]$, on A era un lligand amino inert i X un grup més làbil com halògens o àcids carboxílics orgànics. Les conclusions que varen extraure a partir d'aquest model foren les següents:

²⁴ Barefoot, R.R.; *J. Chromatogr. B*, **2001**, 751, 205-211.

²⁵ De Mier-Vinué, J.; Montaña, A. M.; Moreno, V., *Platinum Complexes with Cytotoxic Activity: Models for Structure-Activity Relationships*, en *Metal Compounds in Cancer Chemotherapy*, Pérez, J. M.; Fuertes, M. A.; Alonso, C. editors, Research Signpost, Kerala (Índia) **2005**, 47-154.

²⁶ Cleare, M. J.; Hoeschele, J. D., *Bioinorg. Chem.* **1973**, 2, 187-209.

-Els compostos en configuració *trans* resultaven inactius. Això era degut a què l'estereoquímica dels grups làbils en *trans* incrementava la reactivitat d'aquests grups sortint, impedit que arribés el fàrmac a la diana terapèutica. Els compostos també havien de ser neutres per tal de poder travessar la membrana cel·lular i evitar l'eliminació prematura del fàrmac.

-Els grups làbils X havien de tenir una reactivitat intermèdia, com la dels ions clorur o bromur. Espècies més reactives augmentaven en excés la toxicitat del complex, mentre que grups menys làbils produïen compostos inerts en vers el DNA. No obstant, s'observà la bona activitat que produïen els compostos que tenien àcids dicarboxílics com a grups sortint. Tot i la, en principi, alta estabilitat de les unions d'aquests grups amb el platí, donaven lloc a compostos amb bones activitats.

-En els compostos que tenien com a grup inert lligands monoaminats s'observaven millors activitats que en els compostos bidentats, no obstant els complexos que tenien com a lligand amoníac eren els que presentaven millors activitats. Aquest comportament es relacionà amb la disminució de la capacitat de formar ponts d'hidrogen en les amines més substituïdes

Aquests primers resultats mostraven resultats interessants, no obstant, amb la diversificació que ha patit l'estudi de compostos de platí anticancerígens, aquest estudi ha quedat superat pel gran nombre d'excepcions obtingudes. Actualment l'estudi de fàrmacs anitumorals de platí comprèn una gran diversitat molecular que fa que no sigui possible obtenir un model generalitzable.

I.1.3.1.-VARIABILITAT ESTRUCTURAL DELS COMPOSTOS DE PLATÍ

Les propietats estereo-electròniques dels compostos de platí vindran determinades per les propietats que presentin els diferents lligands units al platí. Aquestes paràmetres, al cap i a la fi, són els que seran responsables de l'activitat biològica del compost. Alguns dels paràmetres que poden ser determinants són:

-*Mida i morfologia dels lligands*. La mida és un factor important que modularà l'impediment estèric del complex, pot provocar diferències en factors com l'hidròlisi del compost o la seva interacció amb el DNA. No obstant, també és important la morfologia

dels lligands, ja que l'efecte estèric produït, per exemple, per un lligand amb una estructura tendint a esfèrica (com, per exemple, la que podria representa la *tert*-butilamina) serà bastant diferent del que pot produir un lligand d'estructura més lineal (com podria ésser el cas de la butilamina). En aquest aspecte també és remarcable el fet que alguns lligands que presentin estructures planes poden induir dobles mecanismes d'interacció amb el DNA per intercalació²⁷.

-*Presència de cadenes alifàtiques*. La longitud de possibles cadenes orgàniques en els lligands és un factor important a l'hora de determinar la lipofília dels complexos. En general, s'ha observat que els compostos que presenten una solubilitat semblant en aigua i dissolvents orgànics produeixen un descens de la toxicitat i un increment de l'índex terapèutic²⁸. La hidrofília és important per obtenir una bona distribució del fàrmac en el cos, però, d'altra banda, una lipofília intermitja també és desitjable per a què el fàrmac pugui creuar les diferents membranes biològiques per difusió passiva.

-*Presència de grups polars*. Com ja s'ha dit, la polaritat és important per obtenir una bona solubilitat en aigua. D'altra banda, la presència de grups susceptibles de formar ponts d'hidrogen (grups hidroxil, amino...) a més d'augmentar la solubilitat del compost, serà important per modular la interacció amb el DNA²⁹.

-*Estereoquímica del lligand*. Els diversos estereoisòmers d'un lligand poden donar lloc a diferents interaccions amb el DNA o d'altres biomolècules, igualment, en els compostos quirals es poden produir processos de reconeixement molecular diferents degut a la quiralitat de l'hèlix de DNA.

-*Formació de metal·lacicles*. La formació d'un quelat amb l'àtom metàl·lic degut a la presència d'un lligand bidentat pot produir canvis en la farmacocinètica del fàrmac. D'altra banda, la mida del metal·lacicle pot jugar un paper important; depenent de les baules del cicle el complex estarà més o menys estabilitzat i aquest factor influirà en l'activitat del compost.

-*Presència de càrregues en el complex*. El fet que el platí tingui alguna càrrega elèctrica (que no ha estat contrarestada pels lligands) o que els lligands també estiguin carregats (seria el cas d'espècies del tipus NR_4^+ , SR_3^+ , RPO_3^- ...) pot produir que el complex tingui una natura iònica. Així, aquests complexos carregats produiran diferents farmacocinètiques (el fet d'estar carregats els farà més solubles en aigua) i també

²⁷ Gibson, D., Gean, K. F., Ben-Shoshan, R., Ramu, A., Ringel, I. and Katzhendler, J., *J. Med. Chem.* **1991**, 34, 414-420.

²⁸ Hambley, T.W., *Coord. Chem. Rev.* **1997**, 166, 181-223.

²⁹ Reedijk, J. 1992, *Inorg. Chim. Acta* **1992**, 198-200, 873-881.

canviarà llur reactivitat vers d'altres biomolècules que també poden tenir càrregues (pot ser el cas del DNA o moltes proteïnes, per exemple).

-Estat d'oxidació de l'àtom metàl·lic. Els compostos de platí(IV) són molt utilitzats degut a la seva, en general, millor solubilitat. Posteriorment són reduïts en el medi cel·lular (actuen, així, com a profàrmacs), el potencial de reducció d'aquests compostos ve determinat principalment per la natura del grup axial del complex. Tot i que normalment la seva activitat acostuma a ésser menor que en els complexos de platí(II) de similar estructura, són agents interessants degut a les seves propietats farmacocinètiques³⁰.

-Natura del àtoms coordinats al platí. Tot i que la variabilitat d'àtoms que coordinen al platí en aquest tipus de compostos no acostuma a ésser molt alta, la natura dels diversos àtoms (la seva electronegativitat, el seu estat d'oxidació...) pot afectar la densitat electrònica del centre metàl·lic i així modular-ne l'activitat.

-Nuclearitat del complex. La unió de diferents àtoms de platí a través d'estructures orgàniques diamínades pot produir un increment de l'activitat i un descens de la dosi òptima necessària. Aquests compostos, a més, acostumen a actuar per mecanismes d'interacció amb DNA diferents als dels compostos mononuclears³¹.

-Conjugació a lligands amb activitat biològica intrínseca. Alguns dels lligands que s'estudien presenten un efecte addicional, ja sigui anticancerígen o d'un altre tipus (antiviral, antibiòtic, etc.). L'ús d'aquests tipus d'estructures pot portar a dobles mecanismes d'acció, incrementant l'activitat biològica del compost i, en alguns casos, superant problemes de resistència.

I.1.3.2.-EXEMPLES D'ESTUDIS DE SAR

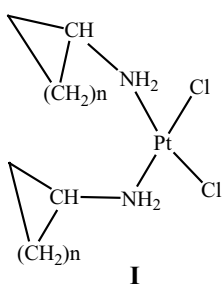
En la bibliografia es poden trobar gran quantitat d'exemples d'estudis de relacions estructura-activitat²⁵ ja sigui estudiant canvis en els grups aminats, làbils o en altres característiques dels complexos. Hem seleccionat alguns dels estudis més rellevants en relació als compostos avaluats en aquesta tesi (principalment canvis en els lligands aminats) per il·lustrar *l'estat de l'art* en aquest aspecte.

³⁰ Pasini, A.; Zunino, F., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1987**, *99*, 632-641.

³¹ (a) Wheate, N. J.; Collins, J. G., *Coord. Chem. Rev.* **2003**, *241*, 133-145. (b) Brabec, V.; Kasparikova, J.; Vrana, O.; Novakova, O.; Cox, J. W.; Qu, Y.; Farrell, N., *Biochemistry* **1999**, *38*, 6781-6790. (c) Johnson, A., Qu, Y.; Van Houten, B.; Farrell, N., *Nucl. Acids Res.* **1992**, *20*, 1697-1703. (d) Farrell, N., *Comments Inorg. Chem.* **1995**, *16*, 373-389.

I.1.3.2.1.-ESTUDIS EN MONOAMINES

Les monoamines es poden veure com compostos anàlegs al cisplatí on algun dels hidrògens dels grups ammina enllaçats al platí s'ha substituït per una cadena orgànica. Aquest tipus de composts ha estat objecte de molts estudis, tant en compostos diaminats com en complexos mixtes amoníac/amina.

 <p style="text-align: center;">I</p>	Numeració
N: 1 2 3 4 5 6	Ia Ib Ic Id Ie If

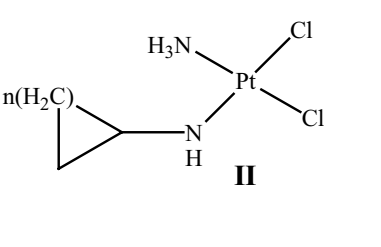
Taula I.1. Compostos de platí amb cicloalquilamines de mida d'anell creixent.

Un estudi³² va analitzar diferents complexos amb cicloalquilamines (veure la Taula I.1), estudiant com influïa el nombre de baules en el cicle alifàtic en l'activitat vers una línia cel·lular de càncer de pulmó. Els complexos que tenien cicloalquilamines d'entre 3 i 6 baules (**Ia-Id**) (Taula I.1) presentaven pitjor activitat que el cisplatí i no s'observaren canvis importants respecte a la diferència de mida del cicle. En canvi, els compostos amb cicles majors portaven a un sobtat canvi en l'activitat biològica, donant lloc a activitats comparables (en el cas de **Ie**) o, fins i tot, superiors a la del cisplatí (**If**). Es pensa que aquest increment d'activitat no es deu a una millor interacció amb bionucleòfils com el DNA, si no que potser està relacionat amb la seva marcada lipofília. L'impediment de la solvatació del DNA degut als cicles de major mida es considera important en l'acció del fàrmac, aquestes pertorbacions poden ser també

³² Kritzenberger, J.; Bernhardt, G.; Gust, R.; Pistor, P.; Schönerberger, H.; Yersin, S., *Monatsh. Chem.* **1993**, *124*, 587-604.

importants en el desenvolupament de resistència per part de les cèl·lules tumorals. No obstant, en els estudis *in vivo* els compostos **Ie** i **If** mostraren una menor activitat degut a la seva baixa solubilitat³³.

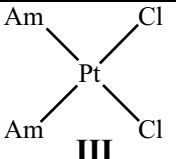
En un altre exemple³⁴, s'estudiaren compostos mixtes amoníac-cicloalquilamina tal i com es mostra a la Taula I.2, també observant les diferències en l'increment de la grandària del cycle. S'observà de nou un increment de l'activitat amb l'augment del nombre de baules del cycle, degut a un increment en el coeficient de partició, que dona com a resultat una major acumulació del fàrmac, així, el compost **IId** arriba a ser entre 2 i 7 cops més actiu que el cisplatí. En aquest cas s'analitzaren emprant com a models el cisplatí i el fàrmac de Pt(IV) (*trans*-1,2-diaminociclohexà)tetracloroplatí(IV) (Pt(IV)-1,2-DACH), i analitzant els fàrmacs en línies cel·lulars resistents al cisplatí i al Pt(IV)-1,2-DACH. Així, incrementant el nombre de baules del cycle s'observava un augment també de l'activitat en la línia resistent al cisplatí, en canvi, s'observa un comportament contrari en la línia resistent al Pt(IV)-1,2-DACH del factor. Així, augmentant la mida del cycle es passa d'un comportament similar al del cisplatí (factors de resistència elevats en la línia resistent al cisplatí) cap a un comportament similar al del Pt(IV)-1,2-DACH (amb factors de resistència elevats per a la línia resistent a aquest fàrmac). Encara no són coneguts els mecanismes biològics que porten a aquesta tendència, però mostren que amb el canvi en la grandària del cycle és possible modular la potència i selectivitat d'aquesta família de compostos.

	
	Numeració
1	IIa
2	IIb
3	IIc
4	IId

Taula I.2. Compostos de platí mixtes amoníac/cicloalquilamina

³³ Braddock, P. D.; Connors, T. A.; Jones, M.; Khokhar, A. R.; Mack, D. H; Tobe, M. L., *Chem. Biol. Interact.* **1975**, *11*, 145-161.

³⁴ Yoshida, M.; Khokhar, A.R.; Siddik, Z.H., *Cancer Res.* **1994**, *54*, 4691-4697.

	Numeració
Am: Metilamina 2-Metil-propilamina Tetrametilenimina o-Fenilendiamina (OFENDA) 4-Metil-OFENDA 4,5-Dimethyl-OFNDA 4-Carboxi-OFENDA Ciclopropilamina Ciclopentilamina Pentametenimina Isopropilamina <i>tert</i> -butilamina <i>n</i> -etilamina <i>n</i> -propilamina <i>n</i> -Butilamina Amoníac Dimetilenimina Ciclohexilamina Etilendiamina Ciclobutilamina 1,2-diaminociclohexà	IIIa IIIb IIIc III d IIIe III f III g III h III i III j III k III l III m III n III o III p III q III r III s III t III u

Taula I.3. Comparació de diferents compostos de platí amb amines i diamines com a lligands.

Una família de compostos *cis*-[PtX₂Am₂] (Taula I.3) es va analitzar amb equacions que relacionaven l'estructura i la densitat electrònica amb l'activitat³⁵. Els resultats que s'han obtingut pels compostos amb ions clorur com a grups làbils, indiquen que una major densitat de càrrega positiva en l'àtom de platí i una densitat de càrrega negativa en els ions clorur (per tant, un menor solapament entre els orbitals de l'enllaç Pt-Cl) produeix un índex terapèutic (relació entre activitat i toxicitat) òptim. Els estudis desenvolupats també indiquen que la substitució del lligand amino és important; així, les amines primàries (amb un major nombre d'àtoms d'hidrogen en el nitrogen) porten cap a una major activitat, tot i que també s'observa un increment de la toxicitat.

Pels compostos *cis*-[PtX₂Am₂] estudiats amb diversos grups sortint, l'augment de la densitat de càrrega en l'àtom de nitrogen també augmentarà l'activitat del

³⁵ Wenxia, T.; Yung, Q.; Anbang, D., *Pure Appl. Chem.* **1988**, *60*, 1271-1278.

compost. Així, compostos que tenien grups malonat (o grups malonat substituïts), que provoquen un increment de la càrrega en l'àtom de nitrogen, presentaren una millor activitat.

En un estudi similar amb compostos tipus *cis*-[PtCl₂(NH₂R)₂] (R=H, CH₃, C₂H₅, C₂H₅Cl, *n*-C₃H₇, *n*-C₄H₉, *n*-C₅H₁₁, *i*-propil, *i*-butil, *i*-pentil, 2-hexil)³⁶, es va estudiar la influència de la llibertat conformacional, el volum i la superfície en l'activitat biològica emprant mètodes de mecànica molecular. De l'estudi d'aquests compostos es va observar que la toxicitat es reduïa en complexos que presentaven volums i àrees majors, obtenint-se una raonable correlació entre toxicitat i volum mitjà. No obstant, no s'observà una relació clara entre el volum i l'activitat antitumoral, tot i que els experiments *in vitro* mostraren que els compostos amb els lligands de menor grandària (R=H, CH₃, C₂H₅, C₂H₅Cl, *n*-C₃H₇, *i*-propil) són els que mostren millors resultats.

1.1.3.2.2.-ESTUDIS EN DIAMINES

Els lligands diaminatats són molt estudiats i les seves propietats (mida del metal·lacicle format, geometria...) es creu que tenen un pes important en l'acció del fàrmac, alguns estudis que hem trobat d'interès sobre aquest tipus de compostos es descriuen a continuació.

En aquest primer cas³⁷ s'estudià com afectava la presència de dos grups hidroxil lliures en l'activitat, respecte a la mateixa molècula amb els oxígens protegits (Figura I.6). Els dos compostos **IVa** i **IVb** es van avaluar *in vitro* vers diverses línies cel·lulars tumorals. En general, **IVa** presentà una potència intermitja respecte els patrons emprats (cisplatí i carboplatí), mentre que, **IVb** presenta una citotoxicitat similar a la del cisplatí en les línies cel·lulars avaluades. D'altra banda, quan els compostos s'avaluaren vers una línia resistent al cisplatí, ambdós compostos mostraren factors de resistència menors que el cisplatí en les cèl·lules resistents a aquest fàrmac. Així, la presència dels grups hidroxil lliures en aquest model provoca un increment de l'activitat respecte al compost protegit, posant-se de manifest la importància que poden tenir aquests grups en la formació de ponts d'hidrogen, hidrofília, etc. En un estudi similar³⁸ s'analitzaren *in vivo* els compostos de platí del 3,4-diamino-1,2-ciclohexandiol, (**IVd**) juntament amb els

³⁶ Cundari, T. R.; Fu, W., *J. Mol. Struct. (Theochem)* **1998**, 425, 51-60.

³⁷ Kim, D. K.; Kim, Y. W.; Kim, H. T.; Kim, K. H., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, 6, 643-646.

³⁸ Witiak, A. D.; Rotella, D. P.; Flippi, J.A., *J. Med. Chem.* **1987**, 30, 1327-1333.

derivats acetilats d'aquest lligand (**IVc**). Els resultats tornaren a mostrar que, mentre els diastereoisòmers del complex hidroxilat presentaven una activitat similar a la del cisplatí, els compostos amb el grup hidroxil protegit no mostraven activitat.

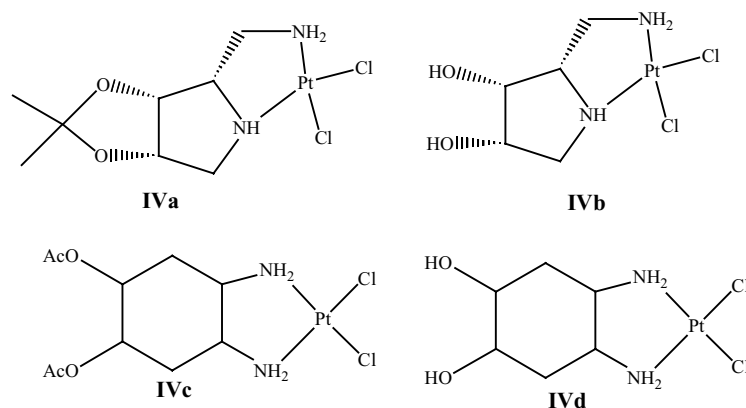


Figura I.6. Compostos de platí amb els grups hidroxil lliures i protegits.

També s'ha estudiat la influència de la substitució dels grups amino en una sèrie de compostos de platí amb lligands piperazina *N*-metilats³⁹ (Figura I.7). L'anàlisi de l'activitat dels tres compostos mostrà que, com ja hem vist en altres casos, el compost menys substituït **Va**, era el que mostrava una millor activitat, seguit per **Vb** i **Vc**. No obstant, els factors de resistència (en un estudi amb cèl·lules resistents al cisplatí) eren menors en el cas dels complexos **Vb** i **Vc** respecte de **Va**. Així, tot i la menor potència mostrada pels compostos *N*-metilats, aquesta era contrarestada pels bons resultats obtinguts en les cèl·lules resistents.

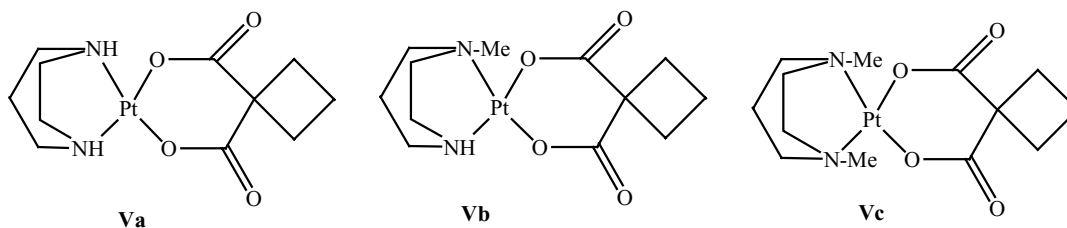


Figura I.7. Compostos de platí amb lligands piperazina, estudi de la substitució en el nitrogen.

Basant-se en estudis que dedüen que els compostos amb amines de valors alts de pKa, presenten una major activitat citotòxica⁴⁰, s'analitzà una sèrie de compostos amb 2-aminometil-1-azacicloalcans de diferents mides de cicle com a lligands⁴¹ (Taula

³⁹ Ali, M. S.; Whitmire, K. H.; Toyamasu, T.; Siddik, Z. H.; Khokhar, A.R., *J. Inorg. Biochem.* **1999**, *77*, 231-238.

⁴⁰ Kidani, Y.; Asano, Y.; Noji, M., *Chem. Pharm. Bull.* **1979**, *27*, 2577.

⁴¹ Morikawa, K.; Homda, M.; Endoh, M.; Matsumoto, T.; Akawatsu, K.; Mitsui, H.; Koizumi, M., *J. Pharm. Sci.* **1990**, *79*, 750-753.

I.4). Per les amines estudiades, els compostos **VIb** i **VIc** van ser els més efectius seguits pel compost **VIId**, mentre que la citotoxicitat de **VIa**, el compost que presentava un valor menor de pKa, resultà ser molt baixa. D'altra banda, comparacions amb complexos similars però amb piridines (també amb menor pKa)⁴², també mostraren millors resultats per a aquesta sèrie.

<p style="text-align: center;">VI</p>	Numeració
N:	
1	VIa
2	VIb
3	VIc
4	VIId

Taula I. 4. Compostos de platí amb 2-aminometil-1-azacicloalcans.

Uns compostos que han rebut una atenció especial són les 1,2-cicloalquildiamines (Figura I.8), degut a l'absència de resistència creuada que mostren tant alguns dels derivats del 1,2-diaminociclohexà (1,2-DACH) (**VIIIb**) com del 1,2-diaminocicloheptà (**VIIIc**). Igualment, els compostos de platí del 1,2-diaminociclopentà (**VIIIa**) mostren certa activitat en línies resistents al cisplatí *in vitro*⁴³. En els assaigs *in vivo* s'observà que els compostos **VIIIb** i **VIIIc** mantenen una alta activitat⁴⁴.

El grup 1,2-DACH presenta unes característiques d'hidrofobicitat, mida i conformació que dona aquestes bones propietats als seus complexos de platí. Els lligands d'aquest tipus produeixen una lleugera labilització addicional dels lligands en *trans*, el que fa incrementar la constant d'hidròlisi del compost. L'hidrofilia dels compostos Pt-1,2-DACH pot portar també a la interacció en vers certes proteïnes a través de les zones hidrofòbiques d'aquestes. A més, la tensió que incorpora el grup 1,2-DACH constreny l'angle d'enllaç dels dos lligands làbils⁴⁵ en el compost de platí, que fa que l'angle

⁴² Morikawa, K.; Honda, M.; Endoh, K.; Matsumoto, T.; Akamatsu, K.; Mitsui, H.; Koizumi, M., *Yakugaku Zasshi* **1998**, *108*, 797-800.

⁴³ Burchenal, J.H.; Klaher, K.; Dew, K.; Lokys, L.; Gale, G.; Burchenal, J.H.; Klaher, K.; Dew, K.; Lokys, L.; Gale, G. *Biochimie* **1978**, *60*, 961-965.

Biochimie **1978**, *60*, 961-965.

⁴⁴ Burchenal, J.H.; Klaher, K.; Dew, K.; Lokys, L.; Gale, G., *Cancer Treatment Reports* **1979**, *63*, 1493-1498.

⁴⁵ Chaney, S.G. *Int. J. Oncol.* **1995**, *6*, 1291-1305.

d'enllaç entre aquests grups làbils estigui entre $82.9^\circ - 83.8^\circ$. D'altra banda, els compostos Pt-DACH presenten menor nefrotoxicitat que el cisplatí i una mielotoxicitat menor en comparació al carboplatí, a més de presentar diferències en la biodistribució i biotransformació en comparació al cisplatí.

Un cas curiós és el complex **VIIId** derivat del 1,4-diaminociclohexà⁴⁶. Els estudis de citotoxicitat d'aquest compost indiquen que presenta una potent activitat en línies tumorals no resistents i que, en cèl·lules resistents al fàrmac presenta millors valors que el cisplatí, tot i que mostra resistència parcial en aquestes línies. En línies cel·lulars resistents al fàrmac Pt-1,2-DACH mostra una activitat superior (18 cops més actiu) a la de **VIIb**. D'aquests resultats es desprèn que hi ha una diferència de reconeixement cel·lular entre els dos isòmers constitucionals, degut a les diferències entre en forma i conformació entre els dos complexos Pt-1,2-DACH. Així, aquesta és una estructura prometedora, doncs presenta millors activitats que el cisplatí en les cèl·lules resistents i a més presenta també activitat en línies resistents al Pt-1,2-DACH. En estudis *in vivo* amb leucèmies resistents al cisplatí també ha presentat millors activitats que el cisplatí, tot i observar-se certa resistència. Així aquest compost no es pot considerar, en el què es refereix a la seva citotoxicitat, un anàleg al *cis*-Pt-1,2-DACH, si no més aviat un compost que presenta unes propietats intermèdies entre les del cisplatí i les dels derivats del 1,2-DACH.

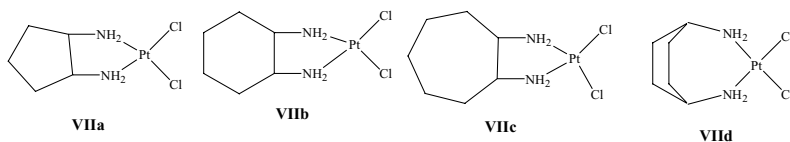


Fig. I.8. Compostos de platí amb cicloalquildiamines.

1.1.3.2.3.-INFLUÈNCIA DE L'ESTEROQUÍMICA DEL LLIGAND

Les diferències entre estructura i activitat per a diversos estereoisòmers de lligands orgànics ha estat estudiada en diversos casos. Segurament el cas que ha centrat l'interès en aquest aspecte és el del lligand 1,2-diaminociclohexà (DACH). Aquest compost presenta tres isòmers diferents, el *cis* (**VIIIa**), el *trans*-(*R,R*) (**VIIIb**) i el *trans*-(*S,S*) (**VIIIc**) (Figura I.9). Com es pot observar la forma *cis* és una forma *meso*, mentre

⁴⁶ (a) Hoeschele, J. D.; Hollis Showalter, H. D.; Kraker, A. J.; Elliott, W. L.; Roberts, B. J.; Kampf, J. W., *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 2630-2636. (b) Shamsuddin, S.; Takahashi, I.; Siddik, Z. H.; Khokhar, A. R., *J. Inorg. Biochem.* **1996**, *61*, 291-301. (c) Shamsuddin, S.; Santillan, C. C.; Stark, J. L.; Whitmire, K. H.; Siddik, Z. H.; Khokhar, A. R., *J. Inorg. Biochem.* **1998**, *71*, 29-35.

que els compostos en *trans* són enantiòmers. En el cas del compost en *cis* els grups amino es trobaran alternadament en posicions axial i equatorial, mentre que en el cas del compost *trans*, els dos grups compartiran posicions diequatorials o diaxials⁴⁷. Quan es coordina al platí, el grup ciclohexà en els isòmers *trans* es troba aproximadament en el mateix pla, mentre que l'anell de ciclohexà en l'isòmer *cis* es projecta perpendicular al pla del quelat Pt-N. L'efecte estèric en els dos diastereoisòmers, és, doncs diferent. Aquestes diferències en planaritat i rigidesa portaran a una diferència en l'acomodament del complex amb l'hèlix de DNA i, per tant, diferències en la citotoxicitat. En general, els isòmers en *trans* presenten millors activitats, amb el compost *trans*-(*R,R*) més efectiu que el *trans*-(*S,S*). No obstant, aquesta especificitat dependrà també dels lligands làbils, els lligands axials (en el cas dels compostos de Pt(IV)) i del model tumoral utilitzat. S'observa⁴⁸ que els compostos presenten diferències en la conversió del monoadducte de Pt-DNA cap a l'adducte bifuncional, essent el compost (*R,R*) el que mostra una cinètica major, seguit per l'(*S,S*) i finalment el (*R,S*). El significat biològic d'aquests canvis no està encara clar, tot i que es pensa que una conversió més lenta pot portar a una reparació més ràpida de la lesió del DNA, doncs els monoadductes són reparats més ràpidament⁴⁹. No obstant, no s'observen diferències importants en els nivells de reparació de lesions *in vivo*. A més, aquesta conversió més lenta incrementa la probabilitat de que es produeixin interaccions del fàrmac amb compostos sulfurats del medi cel·lular⁵⁰.

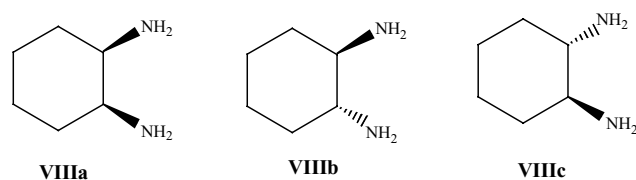


Figura I.9. Isòmers del lligand 1,2-DACH.

També s'han estudiat els compostos derivats del lligand 2-aminometilciclohexilamina⁵¹. Per aquests compostos (Figura I.10), els isòmers en *cis* (**IXa** i **IXb**) presenten una activitat major que els *trans* (**IXc** i **IXd**). En aquest cas

⁴⁷ Kidani, Y.; Inagaki, K., *J. Med. Chem.* **1978**, *21*, 1315-1318.

⁴⁸ Boudny, V.; Vrana, O.; Gaucheron, F.; Kleinwachter, V.; Leng, M.; Brabec, V., *Nucl. Acids Res.* **1992**, *20*, 267-272.

⁴⁹ (a) Reedijk, J.; Lohman, P. H. M., *Pharmaceut. Weeknl. Sci. Ed.* **1985**, *7*, 173-180. (b) Page, J. D.; Hussain, I.; Sancar, A.; Chaney, S. G. *Biochemistry* **1990**, *29*, 1016-1024. (c) Shellard, S.A., *Cancer Res.* **1991**, *51*, 4557-4564.

⁵⁰ Chaney, S.G., *Int. J. Oncol.* **1995**, *6*, 1291-1305.

⁵¹ Noji, M.; Okamoto, K.; Kidani, Y. *J. Med. Chem.* **1981**, *24*, 508-515.

l'anell de ciclohexà és també perpendicular al quelat, mentre que en el cas dels compostos en *trans*, hi ha una coplanaritat amb l'anell del quelat, com en el cas del lligand 1,2-DACH. No obstant, l'estructura d'aquest lligand presenta una major flexibilitat i permet facilitar l'aproximació del complex al DNA, així, el compost en *cis* es podrà allotjar millor en el DNA i reduir l'impediment estèric.

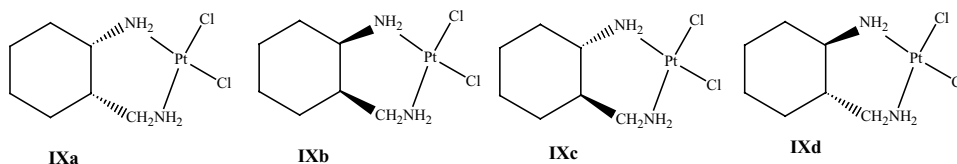


Figura I.10. Isòmers de la 2-aminometilciclohexilamina.

Un altre cas on es pot observar la importància de l'estereoquímica, és en la sèrie de compostos descrits en la Figura I.11⁵². En aquest cas, la estereoquímica dels grups ammina s'observa que modula la toxicitat del fàrmac, mentre que les configuracions relatives dels grups hidroxil i ammina són importants en factors com la solubilitat del compost. Els compostos **Xa-c** que tenen els dos grups ammina en *cis* varen resultar els més eficaços, tot i tenir activitats menor que el cisplatí. Els compostos que tenien els grups ammina en *trans* (**Xd-f**) presentaren una major toxicitat.

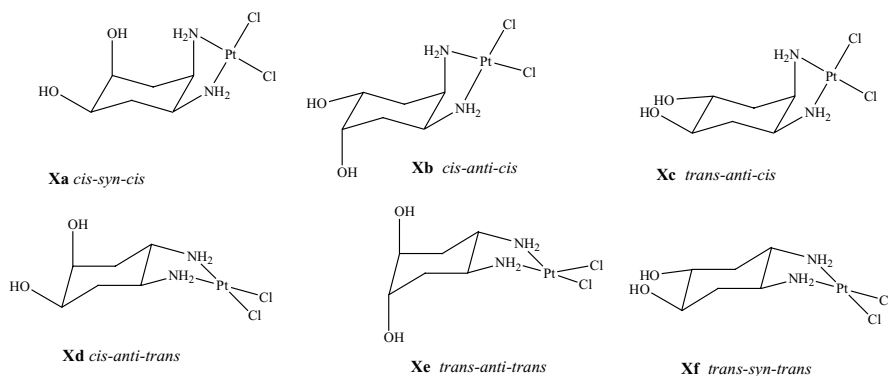


Figura I.11. Compostos dihidroxilats de platí diastereomèrics.

⁵² Witiak, D. T.; Rotella, D. P.; Filppi, J. A.; Gallucci, J., *J. Med. Chem.* **1987**, *30*, 1327-1336.

I.1.3.2.4.-INFLUÈNCIA DE LA MIDA DEL METAL·LACICLE EN COMPOSTOS DIAMINATS DE PLATÍ

Un altre factor important és també la mida del metal·lacicle format per les diamines i el nucli metàl·lic. Així, en els compostos descrits a la Figura I.12, el complex derivat de la 1,4-butandiamina (**XIc**, que forma un cicle de 7 baules) mostrava una major activitat antitumoral que els complexos derivats de l'etilendiamina (**XIa**, 5 baules) i la 1,3-propandiamina (**XIb**, 6 baules)⁵³. Així, l'ordre de les IC₅₀ obtingudes per aquests compostos, va ser: 6-baules < 5-baules < 7-baules. Tot i que el compost de 7 baules mostra un major efecte estèric, presenta millors activitats. El cicle del compost de 7-baules **XIc** no es troba tant estabilitzat per efecte quelat com els altres dos compostos de menor mida, en conseqüència, és possible que aquest compost pugui exhibir la seva activitat anticancerígena per diferents mecanismes que els dels compostos de cicles menors.

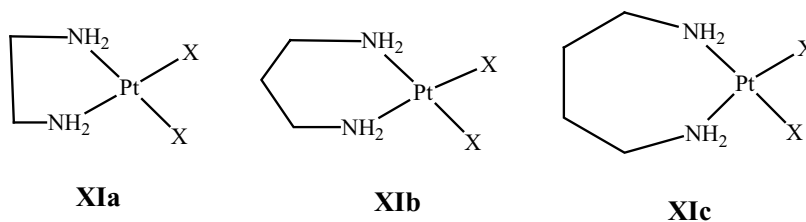


Figura I.12. . Lligands diaminats que formen quelats de diferents mides.

Un efecte similar s'observa en una família de compostos diaminats amb un anell aromàtic (Figura I.13). Basats en l'observació de la baixa estabilitat del compost **XIIa**, es van sintetitzar compostos amb una major mida de cicle (**XIIb** i **XIIc**)⁵⁴. **XIIb** i **XIIc**, a més de mostrar una major estabilitat en aigua, també van produir millors activitats *in vitro*. Com en el cas anterior, el compost amb el quelat de 7 baules es mostrà més potent que el de 6, produint efectes similars als del cisplatí en línies de càncer de pulmó, mentre que en altres línies cel·lulars la seva activitat disminuïa en comparació al fàrmac comercial. Es postula que les diferències estructurals entre els tres compostos podrien portar a canvis tant en la seva interacció amb el DNA com en el transport del fàrmac a través de membrana.

⁵³ (a) Nowatari, H.; Kuroda, Y.; Hayami, H.; Okamoto, K.; Ekimoto, H.; Takahashi, K., *Chem. Pharm. Bull.* **1989**, *37*, 2506-2509. (b) Álvarez, A.; Pérez, J. M.; López, I.; Lannengrand, R.; Contiente, J. M.; Amo, P.; Camazón, J.; Solans, X.; Font Bardía, M.; Navarro-Raninger, C, *J. Med. Chem* **2002**, *45*, 1835-1844.

⁵⁴ Kokerbauer R.; Bednarski, P. J., *J. Inorg. Biochem.* **1996**, *62*, 281-298.

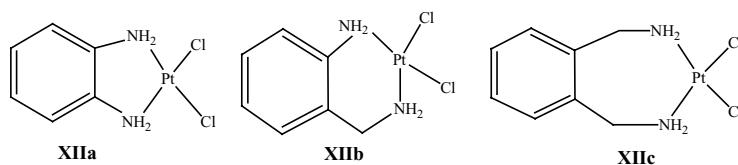


Figura I.13. Compostos aromàtics amb quelats de diversa mida.

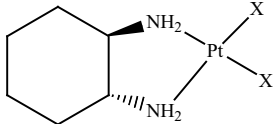
I.1.3.2.5.-INFLUÈNCIA DEL GRUP SORTINT

El grup sortint en els complexos de platí presenta un comportament ben diferent al dels lligands comentats fins aquesta secció. Encara que no té tanta importància en la interacció del fàrmac amb el DNA, és un important regulador de la farmacocinètica del fàrmac, fent possible la seva activació per hidròlisi d'aquests grups. La natura del lligand làbil és important en factors com la solubilitat en aigua del compost, i no només té efectes en l'ADME del complex (Administració, Distribució, Metabolisme i Excreció), si no que també pot modular la toxicitat del fàrmac. L'estabilitat de l'enllaç entre l'àtom de platí i el grup sortint serà un factor important, i diversos factors estructurals s'hauran de tenir en compte, com: (a) natura de l'àtom que enllaça el platí, (b) efecte estèric del lligand i (c) formació de metal·lacicles (en el cas de lligands bidentats). Tot i que en un principi l'estudi d'aquests lligands quedava reduït a espècies inorgàniques (halògens principalment), actualment l'interès s'ha centrat en l'utilització de lligands orgànics, normalment àcids mono- o dicarboxílics. Aquests lligands estan sent molt utilitzats en l'obtenció de nous fàrmacs de platí, i la formació de quelats de 5 baules (cas del derivats de l'àcid oxàlic) o 6 baules (derivats de l'àcid malònic) juguen un paper important en l'estabilització del compost de platí, tot i permetent la substitució d'aquest lligand en interaccionar amb les bases nitrogenades. A més, l'increment d'efecte estèric provocat pels lligands evita reaccions de substitució en el complex⁵⁵.

Per a il·lustrar aquesta variabilitat, podem observar com canvien les propietats del compost Pt-1,2-DACH depenent del grup sortint⁵¹ (Taula I.5). En aquest cas es va estudiar el lligand 1,2-diaminociclohexà amb diferents lligands làbils, orgànics i inorgànics. En el cas dels compostos amb halògens com a lligands (XIIIa-c), es necessitaven dosis efectives altes per presentar activitat. No obstant, el compost dibromat presentava major activitat que el diclorat, tot i no ser molt soluble en aigua.

⁵⁵ Shi, J. C.; Yueng, C. H.; Wu, D. X.; Liu, Q. T.; Kang, B. S. *Organometallics* **1990**, *18*, 3796-3801

En aquest cas concret, la substitució dels clorurs per un grup oxalat (**XIII d**) no va contribuir a millores en la farmacocinètica, degut a què el complex amb el lligand oxalat resultà ser molt poc soluble en aigua. Per paliar aquest problema de solubilitat es van utilitzar els grups sulfat i dinitrat, que, tot i incrementar la solubilitat del compost no donaren lloc a bones activitats. En canvi, la inclusió d'un derivat d'un sucre com a grup sortint va donar molt bons resultats, amb índex terapèutics alts i bona solubilitat en aigua. Podem observar la importància que té, doncs, la modulació del grup sortint i el seu efecte clau en l'activitat del fàrmac, així com en la modulació de les propietats físiques d'aquest.

 <p>XIII</p>	Numeració
X₂ 2Cl 2Br 2I Oxalato (⁻ OOC-CH ₂ -COO ⁻) SO ₄ , H ₂ O 2NO ₃ D-glucuronat	XIIIa XIIIb XIIIc XIII d XIIIe XIII f XIII g

Taula I.5. Compostos de Pt-1,2-DACH amb diversos grups sortint.

I.1.3.3.-VALORACIÓ GLOBAL SOBRE ELS PRECEDENTS D'ESTUDIS DE SAR DE COMPLEXOS DE PLATÍ

Com es pot observar en els estudis comentats, en molts casos, petits canvis en l'estructura poden portar a canvis importants en l'activitat. En general, els canvis que poden fer incrementar l'activitat d'un model determinat de compost no tenen per què donar els mateixos resultats en models diferents, així, generalitzar unes regles d'estructura-activitat no és possible degut a la diversitat de les molècules estudiades.

L'activitat dels compostos ve determinada per propietats com la lipofília, solubilitat en aigua, etc. A més, s'han de tenir en compte diversos paràmetres farmacocinètics que no intervenen en els estudis *in vitro* però que tenen un pes determinant en les proves *in vivo*. En els futurs estudis en aquest camp, és d'esperar que el disseny racional de fàrmacs agafi cada cop una importància major en front dels mètodes empírics de prova-error. Així, la farmacologia molecular i la bioinformàtica podran ajudar a entendre les interaccions entre fàrmacs i molècules biològiques i, per altra banda, la química combinatoria pot ser un important element d'anàlisi de grans biblioteques de compostos.

I.2.-OBJECTIUS

L'objectiu principal d'aquest treball, és desenvolupar una sèrie de compostos de platí que puguin presentar activitat biològica contra el càncer. Per a poder establir una relació entre estructura-activitat, es fa necessari obtenir una sèrie de complexos que tinguin propietats estructurals semblants amb petites diferències entre ells. Per aquestes raons, els objectius i l'estructuració del treball van ser els següents:

1-Síntesi orgànica de diamines. Obtenir una sèrie de diamines amb un esquelet tipus 1,2-bis(aminometil)ciclohexà amb diferents motius estructurals. Aquestes diamines es van dividir en tres tipus:

Diamines que presenten diferent densitat electrònica en l'anell de ciclohexà. Obtenir una sèrie de compostos que es diferenciïn per la seva densitat electrònica (presentant un anell aromàtic, alifàtic o un doble enllaç).

Diamines amb diversos substituents en l'anell de ciclohexà. Estudiar la introducció de diversos grups en la molècula, aquests grups seran susceptibles de modular les propietats del compost (hidrofilia, efecte estèric...).

Diamines bicícliques. A partir de dades conegudes anteriorment en el nostre grup que mostraven que alguns compostos amb lligands bicíclics mostraven activitat prometedora, assajar la derivatització d'aquest tipus de compostos per donar lloc a una major variabilitat de compostos amb aquesta estructura.

2-Síntesi i caracterització de compostos de platí. Amb les diamines obtingudes, se sintetitzaran els seus corresponents compostos diclorats o diiodats de platí per formació d'un quelat de set baules. L'obtenció d'aquests compostos ens permetrà establir una correlació entre estructura del lligand i activitat biològica.

3-Estudis bioquímics d'interacció amb biomolècules. S'analitzaran la interacció amb DNA dels compostos obtinguts mitjançant diverses tècniques. També es durà a terme un estudi més acurat, emprant mètodes biofísics, d'una sèrie de compostos bicíclics que anteriorment han presentat prometedora activitat biològica

4-Estudi de l'activitat citotòxica in vitro. Els compostos de platí obtinguts també s'avaluaran en línies cel·lulars cancerígenes. S'estudiarà la seva activitat citotòxica (emprant els valors d'IC₅₀) i també, per als compostos més actius, s'estudiarà si aquests indueixen una mort cel·lular programada per apoptosi.

