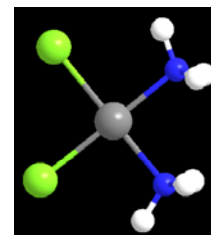


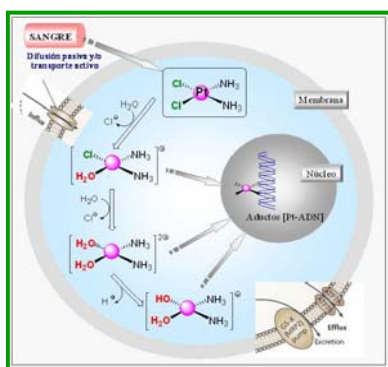
Química Inorgánica

Química Inorgánica



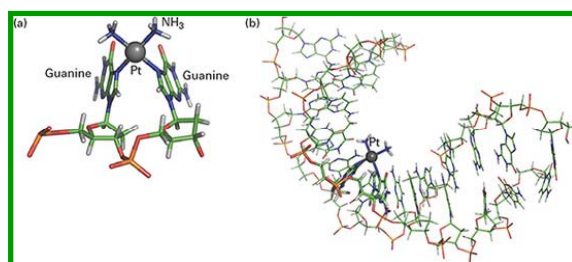
Barnett Rosenberg (1926-2009)

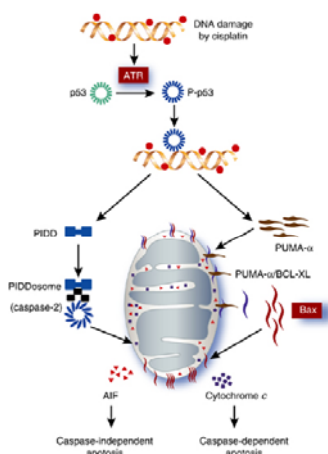
**INTERACCIÓN DE COMPLEJOS DE PLATINO Y RUTENIO CON COMPONENTES DE CÉLULAS TUMORALES**



Química Inorgánica

Química Inorgánica





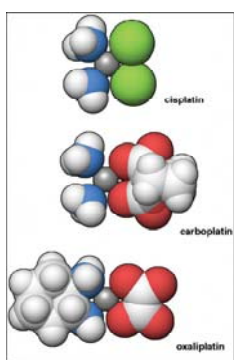
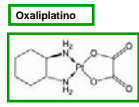
El daño causado por el cisplatino origina un proceso de muerte celular por apoptosis en el que se implican varias proteínas como la p53 y la familia de las caspasas entre otras.

El gen BAX acelera la muerte programada al expresar una proteína que en la membrana mitocondrial provoca la salida del citocromo-C.

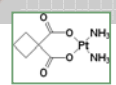
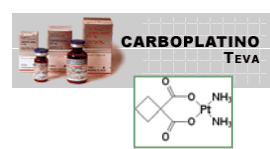
Como consecuencia, se produce la activación de la caspasa-3 que conduce a la muerte por apoptosis.

Por otra parte, la proteína PIDD codificada por un gen regulado por la p53 activa una caspasa que provoca salida del factor inductor de la apoptosis AIF.

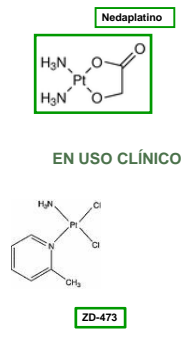
Química Inorgánica



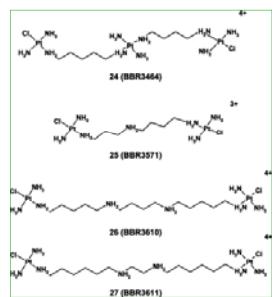
Química Inorgánica



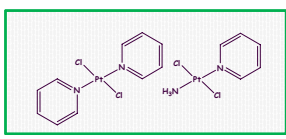
Química Inorgánica



EN FASE CLÍNICA AVANZADA

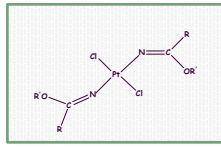


Compuestos polinucleares de N. Farrell



Complejos *trans*-Pt(II)Cl<sub>2</sub> con moléculas heterocíclicas planas

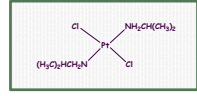
N. Farrell et al., *J. Med. Chem.* 1989, 32, 2240



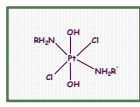
Complejos *trans*-Pt(II)Cl<sub>2</sub> con ligandos iminoéter

G. Nattie et al., *J. Med. Chem.* 1993, 36, 510

Complejos *trans*-Pt(II)Cl<sub>2</sub> con aminas alifáticas asimétricas

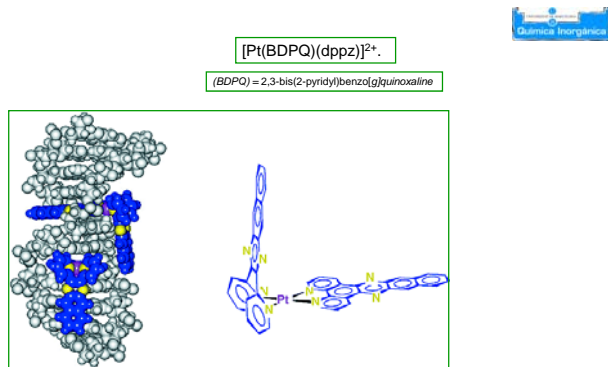


C. Navarro-Ranninger et al., *J. Med. Chem.* 1999, 42, 4264



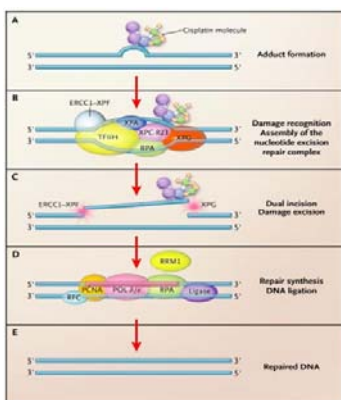
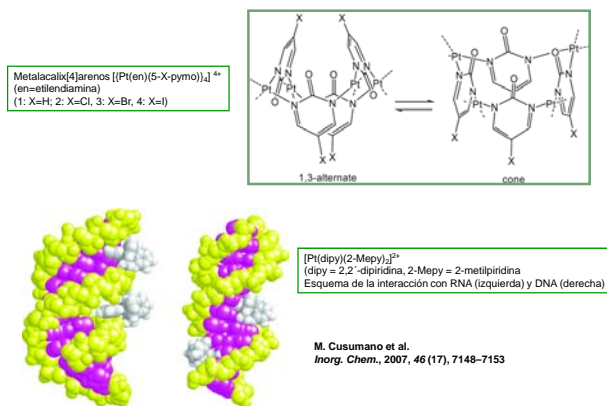
Complejos *trans*-Pt(IV)

L.R. Kelland et al., *J. Med. Chem.* 1995, 38, 3016



P.Lincoln and col. *Inorg. Chem.* **2004**, *43*, 2416-2421

Michael J. Hannon, Alison Rodger, Félix Zamora, Jorge A. R. Navarro et al.  
*Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 5075 – 5081

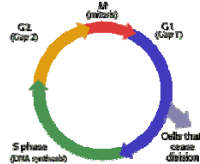


Las proteínas reparadoras reconocen el daño causado en el DNA por la unión covalente del complejo de platino, escinden por ambos extremos los nucleótidos de la zona dañada y una polimerasa restaura la secuencia perdida.

Es una de las causas de la resistencia a los fármacos de platino.

### Estrategias para dirigir los complejos hacia las células tumorales

El factor de crecimiento epidérmico (EGF) es una proteína que induce a las células hacia la fase G1 del ciclo de la división celular. Es un requerimiento para la diferenciación de los tejidos epidérmicos.

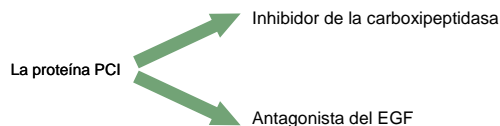
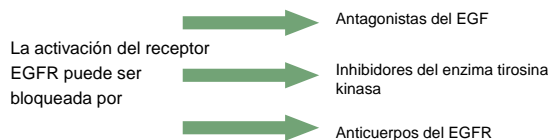


EGF, y su receptor, EGFR juegan un papel muy importante. Ambos están implicados en los procesos de crecimiento de las células tumorales, de la invasión del tumor o de metástasis.



### Antagonistas de factores de crecimiento

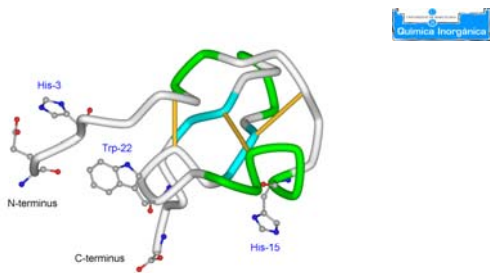
En la mayoría de los tumores de origen epitelial (carcinomas) se ha detectado sobre-expresión del receptor EGFR



La estructura primaria consta de 39 aminoácidos

Glu-Gln-His-Ala-Asp-Pro-Ile-Cys-Asn-Lys-Pro-Cys-Lys-Thr-His-Asp-Asp-Cys-Ser-Gly-Ala-Trp-Phe-Cys-Gln-Ala-Cys-Trp-Asn-Ser-Ala-Arg-Thr-Cys-Gly-Pro-Tyr-Val-Gly

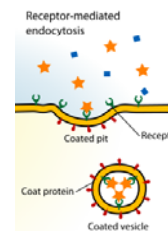
El cambio de la glicina del extremo del CI por una metionina, no afecta al plegado de la proteína. Los tres puentes S-S permanecen y el receptor del factor de crecimiento reconoce a la proteína.

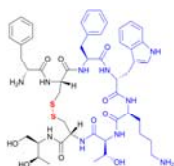


Es el primer antagonista del EGF descrito y es capaz de unirse al receptor EGFR sin activarlo. Como consecuencia se bloquean sus funciones y el PCI actúa como citostático.

Es capaz de enlazar compuestos de platino a través de la metionina terminal en la PCI mutada y de las histidinas 3 y 15 que orientan los anillos imidazólicos hacia la superficie.

Se convierte así en un vehículo transportador de compuestos de platino hacia la membrana celular. Un proceso de endocitosis posterior introduce en el citoplasma el compuesto de platino. Las células normales o carecen o expresan en proporciones muy pequeñas los receptores del factor de crecimiento en la membrana. Introduce, por tanto, selectividad hacia células tumorales





El Octreotide es un péptido cíclico que contiene dos aminoácidos *D* (*D*-Phe<sup>1</sup>, *D*-Trp<sup>4</sup>) en su secuencia, y dos funciones amino (NH<sub>2</sub>-Phe<sup>1</sup>; NH<sub>2</sub>-Lys<sup>5</sup>), a las que se puede unir un complejo de platino.

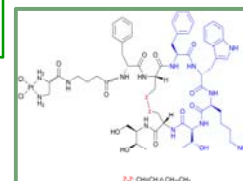
El octreotide presenta actividad biológica y afinidad hacia ciertos receptores de la somatostatina.

La somatostatina es una potente hormona endocrina implicada en la regulación de muchos procesos fisiológicos como la secreción, división celular, proliferación y apoptosis, que están modulados por 5 receptores acoplados a proteínas G (sst1-5) localizados en la membrana celular.

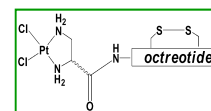
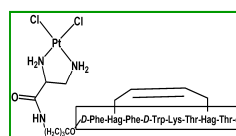
Aunque todos los receptores se expresan en diferentes grados en los tumores, la sobre expresión del subtipo sst2 es mucho más importante.



Con objeto de evitar la interacción y ruptura subsiguiente del puente S-S se han sintetizado otros análogos estructurales del octreotide que mantienen la actividad citostática de la somatostatina. El puente, con cadena dicarba saturada o insaturada, se ancla en dos derivados de aminoácido, alilglicinas (Hag), introducidos en la cadena peptídica

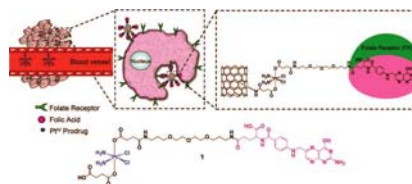
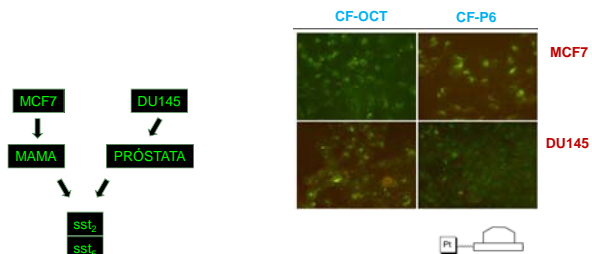


F. Barragán, V. Moreno, V. Marchán  
*Chem. Comm.*, 2009, DOI: 10.1039/B909698A



La inclusión de un grupo fluoróforo en el extremo de la cadena peptídica de los compuestos, nos ha permitido comprobar la internalización en varios tipos de células, de los análogos sintéticos.

Son otro tipo selectivo de vehículos hacia las células tumorales.

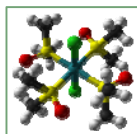
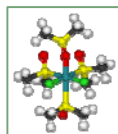
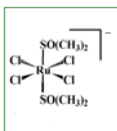


S. Dhar, Z. Liu, J. Thomale, H. Dai, S. J. Lippard, *JACS* 2008, 130, 11467-11476.

Utilizando un nanotubo de carbono como vehículo, un compuesto de Pt(IV) se ha unido mediante un linker a un residuo de folato, que es reconocido por los receptores que se expresan en la membrana de la célula tumoral; se internaliza el conjunto por endocitosis y se libera en el citoplasma el Pt(II) reducido por los reductores que allí se encuentran en gran concentración

Clarke fue el primero que descubrió en los años 70, que algunos complejos de Ru(III) poseían propiedades antitumorales. Las primeras investigaciones llevaron a pensar que la diana biológica de estos compuestos era también el DNA.

Sin embargo, las pruebas de las fases clínicas no llegaron a culminar satisfactoriamente debido a las propiedades mutagénicas de estos compuestos y a la facilidad de sustitución de los ligandos que hacía muy versátiles las uniones a las bases del DNA.



M.J. Clarke, in "Ruthenium and Other Non-Platinum Metal Complexes in Cancer Chemotherapy"; Springer-Verlag: Heidelberg, Germany, 1989.

Química Inorgánica



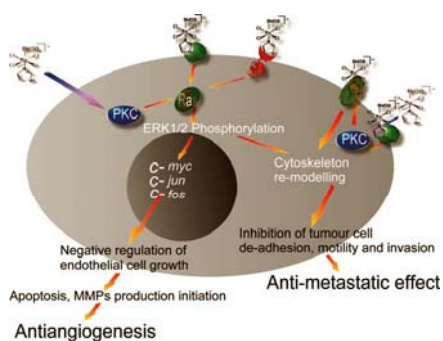
El complejo de Ru(III) llamado NAMI-A, (Im-H)[*trans*-RuCl<sub>2</sub>(DMSO-S)(Im)], (Im=imidazole, DMSO-S= dimetilsulfóxido enlazado por el átomo de S) es el primer compuesto antitumoral de rutenio que ha completado satisfactoriamente las pruebas clínicas en Fase I.

Presenta una notable actividad contra metástasis de pulmón de tumores sólidos pero es ineficaz en la reducción de tumores primarios. Los compuestos con estructura similar (Im-H)[*trans*-RuCl<sub>2</sub>(Im)<sub>2</sub>], KP418, y el análogo de indazol, KP1019, son fármacos prometedores en el tratamiento de cáncer de colon, pero sin embargo, no presentan actividad antimetastática.

A pesar de la relevancia farmacológica de estos compuestos no se ha podido justificar hasta ahora la notable diferencia de su actividad. Se han estudiado los posibles procesos de hidrólisis de los compuestos NAMI-A y KP418 en ambos estados de oxidación Ru(II) y Ru(III). La realidad es que el NAMI-A conduce a una serie de reacciones de intercambio de ligandos en el medio fisiológico que complica mucho el estudio.

Se estudia la unión a las proteínas llamadas integrinas, localizadas en la membrana celular que son la diana probable del NAMI-A y que desencadenan el proceso de actividad anticancerígena.

Química Inorgánica



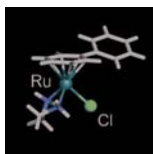
[Angiogénesis](#)

Paul J. Dyson and Gianni Sava  
*Dalton Trans.*, 2006, 1929–1933

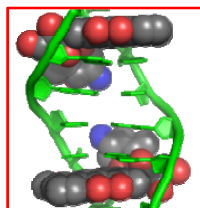
Química Inorgánica



Se ha comprobado la posibilidad de interacción efectiva del NAMI-A con las integrinas, proteínas que presentan una cadena peptídica adecuada para enlazar el complejo de Ru.



Los compuestos organometálicos  $\pi$ -arenos de rutenio(II) con actividad antitumoral están integrados por tres partes: el areno, un ligando saliente monodentado y otro ligando bidentado. El proceso de aquación es importante para el enlace covalente del Ru al DNA. Las características del ligando bidentado son importantes, pues la presencia de grupos NH o de grupos OH facilita la formación de enlaces de H. El tamaño del areno influye en las interacciones de "stacking" con las bases del DNA.



Novakova O, Kasparkova J, Bursova V, Hofr C, Vojtkova M, Chen HM, Sadler PJ, Brabec V: **Conformation of DNA modified by monofunctional Ru(II) arene complexes: Recognition by DNA binding proteins and repair. Relationship to cytotoxicity.** *Chemistry & Biology* 2005, 12:121-129.

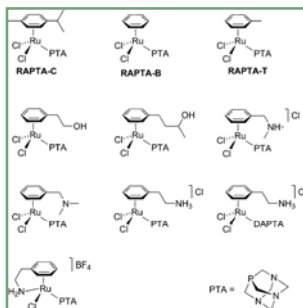
P.J. Sadler ha estudiado las relaciones estructura actividad de estos compuestos.

El DNA no es el único blanco de actuación. Son posibles las interacciones con proteínas y otros componentes celulares



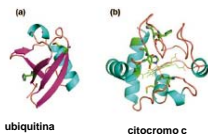
Estas proteínas enzimáticas se pueden convertir en vehículos de transporte de los complejos: lisozimas (saliva), transferrinas, albúmina (sangre)....., y por otra parte, pueden favorecer los procesos de eliminación del organismo

McNae IW, Fishburne K, Habtemariam A, Hunter TM, Melchart M, Wang FY, Walkinshaw MD, Sadler PJ: **Half-sandwich arene ruthenium(II)-enzyme complex.** *Chemical Communications* 2004:1786-1787.



Dyson ha estudiado una nueva familia de compuestos arenos de rutenio(II), la familia RAPTA, donde PTA es una fosfina bicíclica, los arenos están funcionalizados con objeto de aumentar la solubilidad de los compuestos y uno o dos ligandos salientes

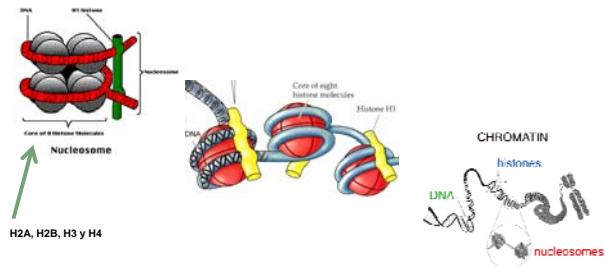
Ha estudiado la interacción con proteínas a través de histidina, metionina y cisteína

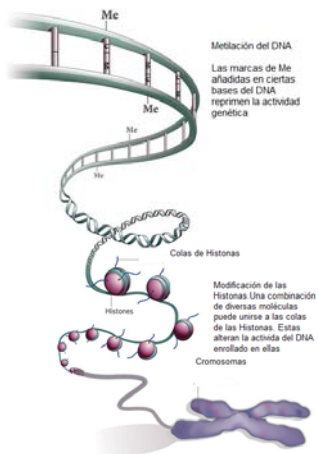


Claudine Scolaro, Adrian B. Chaplin, Christian G. Hartinger, Alberta Bergamo, Moreno Cocchiello, Bernhard K. Keppler, Gianni Sava, and Paul J. Dyson *Dalton Trans.*, 2007, 5065-5072

**HISTONAS** : dianas alternativas para los complejos de platino y rutenio

Las proteínas histonas (H1, H2A, H2B, H3 y H4) y los nucleosomas forman con el DNA las piezas básicas del edificio de la cromatina de los eucariotas.





**Metilación del DNA**  
Las marcas de Me añadidas en ciertas bases del DNA reprmen la actividad genética

Sufren un complejo conjunto de modificaciones post-traslacionales tales como la acetilación, la metilación, la fosforilación, la ADP-ribosilación y la ubiquitinación que tienen lugar sobre los aminoácidos terminales de los dominios extremos.

Muchos de los sitios de modificación están tan próximos unos de otros que la modificación de la cola de una histona por un enzima puede influir en la velocidad y eficiencia a las que las subsiguientes enzimas siguen modificando las colas de las histonas.



La formación de tumores puede estar asociada a alteraciones genéticas o epigenéticas. Las genéticas suelen ser irreversibles mientras que las epigenéticas pueden ser reversibles. Una terapia epigenética contra el cáncer se basaría en la reactivación de la expresión de genes que se ha silenciado por alteraciones epigenéticas.

En muchas células cancerígenas se han identificado procesos de acetilación o metilación anómalos. Compuestos que inhiben los enzimas HDAC o DNMT pueden actuar como fármacos antitumorales epigenéticos.

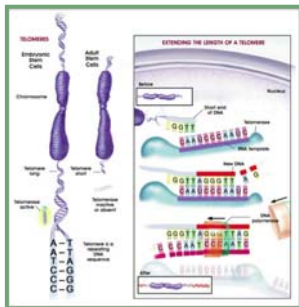
Estos enzimas, proteínas con muchos sitios probables de unión de Pt(II) o Ru(II), pueden bloquear su actividad por actuación de compuestos, que tendrían potencial antitumoral y se comportarían como fármacos epigenéticos.

**Telómeros y telomerasas**

El envejecimiento celular es un estado de crecimiento irreversible asociado con cambios morfológicos y funcionales.

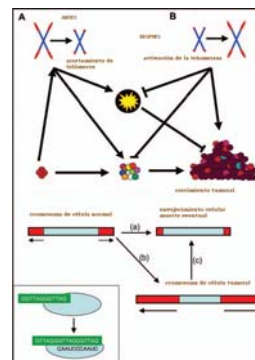
La señal de envejecimiento celular es el acortamiento de los telómeros, que está asociado al envejecimiento replicativo de la célula.

El mecanismo de actuación de las telomerasas se explica por su constitución que agrupa un RNA plantilla y una transcriptasa inversa



Un paso importante en el proceso de la carcinogénesis es la superación del envejecimiento normal celular y la adquisición de un potencial replicativo ilimitado. El mantenimiento de la longitud de los telómeros es la orden que se da a la célula para adquirir la "inmortalidad".

En este proceso están implicados dos mecanismos: la reactivación de la telomerasa, el enzima responsable del mantenimiento de la longitud de los telómeros en la mayoría de las células tumorales, y el alargamiento alternativo de los telómeros (ALT) por recombinación intratelomérica en células cancerígenas que no expresan telomerasa.





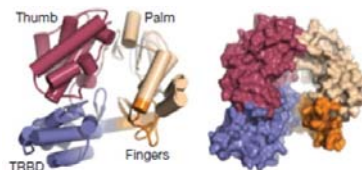
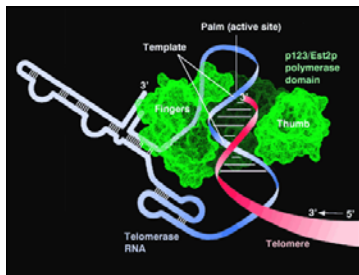


Los complejos de platino y de rutenio pueden inhibir la telomerasa y conducir a la pérdida de la "inmortalidad celular", al envejecimiento y a la muerte de las células.

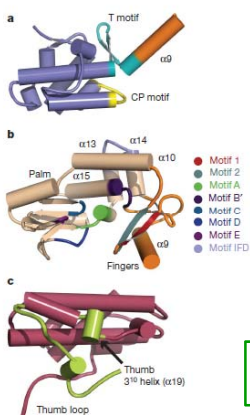
Las telomerasas son posibles dianas de los complejos de platino(II) y de rutenio(II) para la terapia antitumoral

NATURE, 2008, 455

Estructura de la telomerasa



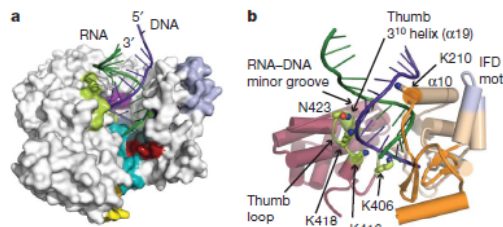
Organización del dominio TERT: el dominio TRBD es el que enlaza el RNA



El TRBD, casi todo helicoidal, enlaza el RNA a través de los motivos T y CP.

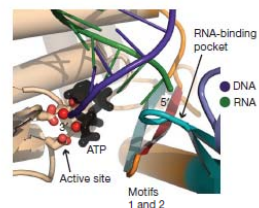
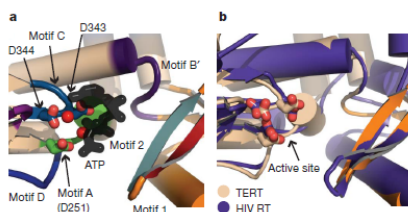
El dominio de la transcriptasa inversa consta de los subdominos *palm* y *fingers*. El *palm* está implicado en el enlace de nucleótidos y en la síntesis del DNA. El subdominio *fingers* está implicado en el enlace de nucleótidos y RNA

El dominio *thumb* helicoidal está implicado en la organización y enlace del DNA



Modelo del complejo TERT-RNA-DNA

El bolsillo de enlace al RNA está localizado en la cavidad profunda



Sitio activo y de enlace a nucleótidos en la telomerasa: hay tres aminoácidos ácido aspártico invariables.

El sitio de enlace de nucleótido se localiza en la interfase de los subdominios fingers y palm de la transcriptasa reversa

La superposición del sitio activo del dominio TERT y de la transcriptasa reversa muestra un grado de semejanza entre los bolsillos de los dos enzimas

Modelo del heteroduplex en TERT que tiene lugar en el extremo 3' del sustrato DNA (rojo púrpura) en el sitio activo del enzima, y el extremo 5' del sustrato RNA (verde oscuro) en el bolsillo de enlace del RNA de la telomerasa



Los dominios de la telomerasa, con cadenas peptídicas tienen muchos posibles de unión para los complejos metálicos. Estos pueden también interactuar con las bases o grupos fosfato de los ácidos nucleicos.

Esta interacción puede bloquear la formación del complejo telomerasa-DNA-RNA, inhibir la acción de la telomerasa y como consecuencia disparar el envejecimiento celular.

Aunque se ha avanzado mucho en el conocimiento de los mecanismos de actuación de complejos antitumorales, queda mucho por descubrir en el complicado mundo de la célula para poder establecer los mecanismos que actúan y diseñar nuevos fármacos activos



Grupo de trabajo Bioinorgánica,  
Departaments de Química Inorgánica y de Microbiologia, UB

Dra. Amparo Caubet  
Dra. M<sup>a</sup> José Prieto

**Doctorandos:**  
André Nuno Costa  
Flavia Barragán  
Esther Escribano  
Luis Antonio Medina

**Alumnos de Master Oficial:**  
Jordi Grau  
Rubén Sáez  
Helena Guiset

Síntesis y caracterización de compuestos de paladio, platino y rutenio

Estudios de la interacción con DNA:  
dicromismo circular  
electroforesis en gel de agarosa  
medidas de viscosidad  
AFM

Estudios de interacción con proteínas  
Vehiculización con péptidos, proteínas



## Colaboraciones

Dra. Julia Lorenzo  
Prof. Xavier Avilés  
Institut de Biomedicina i Biotecnologia, UAB

Prof. Peter Sadler  
University of Warwick (UK)

*Estudios fotoluminiscentes*

Dra. Verónica Noe  
Prof. Carles Ciudad  
Departament d Bioquímica  
Facultat de Farmàcia, UB

Dra. Anna Massaguer  
Dra. Dolors Carrión  
Prof. Rafael de Llorens  
Departament de Biologia  
Universitat de Girona

*Estudios de  
internalización  
celular*

*Ensayos de citotoxicidad*

Dr. Vicente Marchán  
Departament de Química Orgànica, UB

*Síntesis de péptidos*

Dra. Helena Anselmo García  
Universidade de Lisboa  
Portugal

*Organometálicos de rutenio*

Prof. Domenico Osella  
Universidad de Alessandria (Italia)

*Estudios electroquímicos*



## Agradecimientos

MICINN  
Proyectos: CTQ2005-01834 y CTQ2008-02064

Proyecto CYTED

Becas:  
Ministero de Ciência e Tecnologia de Portugal (A.C.)  
FPI- CTQ2005-01834 (F.B.),  
FPI-CTQ2008-02064 (L.A.M.)  
BRD, UB (E.E.)



MUCHAS GRACIAS  
POR SU ATENCION