




**"Desarrollo de nuevos fármacos anticancerígenos a base de cobre(II) Casiopeínas"**

Lena Ruiz Azuara  
Facultad de Química  
Universidad Nacional Autónoma de México

Red Iberoamericana CYTED  
Montevideo, 29 de julio 2009

**RESPONSABLES**  
M. en C. Ma. Isabel Gracia Mora  
Dr. Mario Altamirano Lozano  
Dra. Inés Fuentes Noriega  
Dra. Carmen Mejía Vázquez  
Dra. Cristina Trejo Solís  
Dr. Héctor Sumano López  
Dr. Fernando Constantino Casas  
Dra. Sara Rodríguez Enriquez  
Dra. Karla Carvajal Aguilera  
M. en C. Ernesto Rodríguez Aguilera  
Dr. Rafael Moreno Esparza  
Dr. Vicente Madrid Marina  
Dr. Erick Alexanderson Rosas  
Dra. Ma. Josefa Bernad Bernad  
M. en C. Matilde Breña Valle

**ASOCIADOS**  
C. Dra. Ma. Elena Bravo Gómez  
C. Dra. Araceli Tovar Tovar  
MVZ. Lucía Macías Rosales  
MVZ. Mabel Tinoco Méndez  
MVZ. Marisol Rivera Huerta  
M. en C. Héctor Rico Morales  
Q.A. Jacqueline Sáenz Chuc  
QFB. Celedonio Gómez Ruiz  
Dr. Luis Ortiz Frade  
M. en C. Jorge Luna del Villar Velasco  
Dra. Ma. Del Carmen García Rodríguez  
Dra. Lucila Álvarez Barrera

**ALUMNOS DE DOCTORADO**  
Francisco Carvallo Chaigneau  
Radamés Alemón Medina  
Francisco Sánchez Bartz  
Roberto Carlos Cañas Alonso  
Guadalupe Vértiz Serrano

**ALUMNOS DE MAESTRÍA**  
Marco Leal García  
Luis Enrique García Ortuño  
Juan Carlos García Ramos

**ALUMNOS DE LICENCIATURA**  
Lidia Barrón Sosa  
Nallely Chlapa Zavala  
Fabiola Sánchez Peláez  
Miguel Ángel Muciño Hernández  
Amada Huerta Palacios  
Gladys Janet Reyes Sánchez




## Quimioterapia

La razón para la búsqueda de nuevos antineoplásicos está basada en la necesidad de encontrar compuestos con:

- Ausencia de resistencia cruzada.
- Un espectro más amplio de actividad.
- Mayor efectividad clínica antitumoral.
- Disminución de efectos eméticos y renales.
- Sinergismo en terapias combinadas.

## Fármacos con Centro Metálico

- ❖ Cisplatino
- ❖ Carboplatino
- ❖ Oxaliplatino
- ❖ Experimentales:  
Pt, Pd, Ti, Sn, Ru, Nb, Au, Cu

Ni	Cu
Pd	Ag
Pt	Au

## Casiopeínas: del Pt al Cu

- Metal esencial
- El organismo puede eliminar el exceso por procesos homeostáticos
- Los compuestos planos o pirámides cuadrada pueden interactuar con el ADN
- El Cu(II) puede intervenir en procesos Red-Ox
- Es más económico

## CASIOPEÍNAS

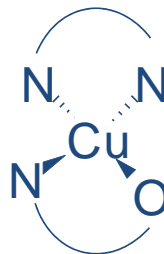
•A inicio de los 80's: Proyecto desarrollo de fármacos antineoplásicos a partir de metales de transición esenciales biológicamente.

Objetivos: Disminución de toxicidad y costo; Selectividad Tumoral.

•80's: Demostración de actividad antitumoral en ensayos *in vivo* con modelos murinos (NCI)

•90's: **Patente** SECOFI 18801, P.I. (1990), Patente, enero 26, (1994) no. 172967, SECOFI 18802, P.I. (1990), Patente, Dic 9 (1993) no. 172248 U.S. patent, Apr21 (1992) Number 5,107,005, U.S. patent Re 35, 458, Feb 18 (1997), U.S. Patent, Patent No. 5, 576,326, Nov 19 (1996), Reg. 407543 SECOFI (1992)

## CASIOPEÍNAS



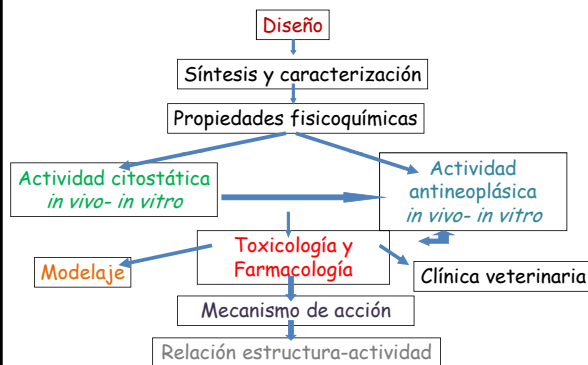
La familia de compuestos CASIOPEINAS® es un grupo de compuestos de coordinación de cobre (II) como centro metálico, que en la esfera de coordinación presentan un ligante bidentado del tipo diimina (N-N) y otro que puede ser aminoacidoato (N-O) o donador (O-O)

## Compuestos Ternarios de Cobre(II), Casiopeínas®

N-N	N-O (aa esencial)	O-O (acac, salal)	(N-O)n (peptidos)
4,7-df-fen	Cas I	Cas III	Cas X
4,7-dm-fen	Cas II	Cas III	Cas X
4,4-dm-bipi	Cas IV	Cas III	Cas X
5-R-fen	Cas V	Cas III	Cas X
5,6-dm-fen	Cas VI	Cas III	Cas X
fen	Cas VII	Cas III	Cas X
3,4,7,8-tm-fen	Cas VIII	Cas III	Cas X
3,8-dm,4,7-df-fen	Cas IX	Cas III	Cas X

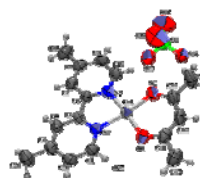
L. Ruiz Azuara, U. S Patent Re35, 458, Feb. 18 (1997), U.S.Pat. No. 5,576,326, Nov. 19 (1996)

## Fases del proyecto en el Desarrollo Preclínico



## CARACTERIZACIÓN DEL FÁRMACO

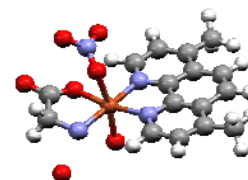
- Análisis Elemental
- Espectrofotometría de infrarrojo
- UV-Vis
- Conductividad
- Momento Magnético
- Estructura por Dif. RX.
- E. de masas
- Termo gravimetría
- EPR
- Estabilidad en disolución y cámara climática



Casiopeína III-ia

$[\text{Cu}(4,4\text{'-dm-bipi})(\text{acac})]\text{NO}_3$

Tovar-Tovar et al., *J. of Inorganic Biochemistry*, 98 (2004) 1045-1053.



Casiopeína IIgly

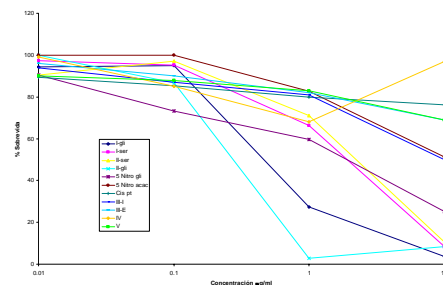
$[\text{Cu}(4,7\text{-dmfen})(\text{gli})]\text{NO}_3$

Ruiz-Ramírez L., Solans X., et al. *Acta Crystallographica C*49 (1993) 890-893.

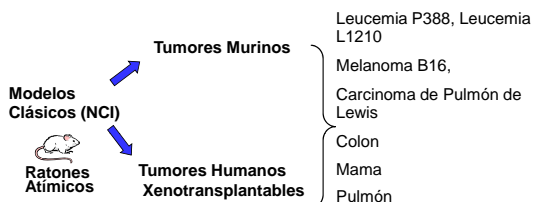
## Evaluación Preclínica

- Evaluación citotóxica *in vitro* e *in vivo* [Citotoxicidad.pdf](#)
- Evaluación citostática *in vitro* [Citostaticidad in vitro.pdf](#)
- Evaluación Antineoplásica *in vitro-in vivo* [Antineoplásica.pdf](#)
- Potencial Mutagénico [Potencial mutagenicidad.pdf](#)
- Apoptosis y Ciclo Celular [Apoptosis y CC.pdf](#)
- Farmacocinética básica [Farmacocinética.pdf](#)
- Toxicidad Aguda [Toxicidad.pdf](#), Cardiotoxicidad [Cardiotoxicidad.pdf](#) y Reprotoxicidad [Reprotoxicidad.pdf](#)
- Mecanismos de acción [Mecanismos de acción.pdf](#) [Link Defina Oxicodona.pdf](#)
- Correlación estructura-actividad [QED.pdf](#)

## Efecto de los fármacos sobre la línea tumoral HeLa

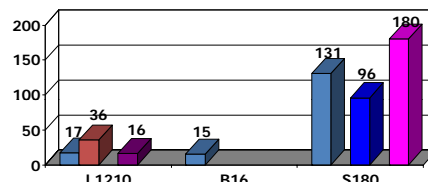


-Isabel Gracia-Mora, Lena Ruiz-Ramirez, et al., Metal Based Drugs, 2001,8,1,19-28,



- Leucemia P388, Leucemia L1210
- Melanoma B16,
- Carcinoma de Pulmón de Lewis
- Colon
- Mama
- Pulmón

## ÍNDICE DE SOBREVIDA CASIOPEÍNA II i.p.



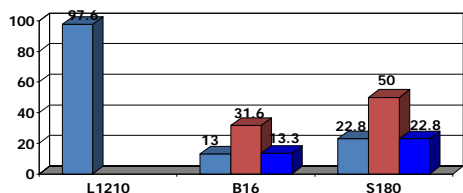
- I = 1, 5, 9
- I = 1, 5, 9, 13 (6 mg/kg/iny)
- I = 1, 4, 7, 10 (4 mg/kg/iny)
- C = 1-5 y 11-15 (2 mg/kg/iny)
- C = 1-9 (2 mg/kg/iny)

Cisplatino=35

Ruiz-Ramirez L., Gracia-Mora L., et al., *Journal of Inorganic Biochemistry*, 43, 2-3 (1991) 615

Gracia I., Bravo M.E., Ruiz-Ramirez, et al., *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, (2004)

## ÍNDICE DE SOBREVIDA CASIOPEÍNA III ia i.p.



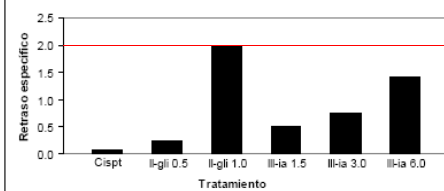
- I = 1, 5, 9 (6 mg/kg/iny)
- I = 1, 4, 7, 10 (4 mg/kg/iny)
- C = 1-9 (2 mg/kg/iny)

Cisplatino=35

Ruiz-Ramirez L., Gracia-Mora L., et al., *Journal of Inorganic Biochemistry*, 43, 2-3 (1991) 615

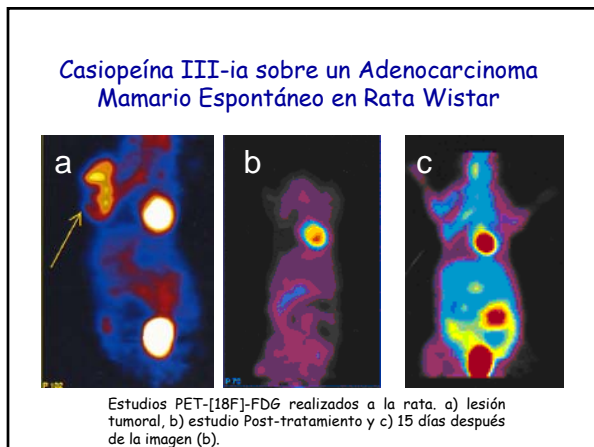
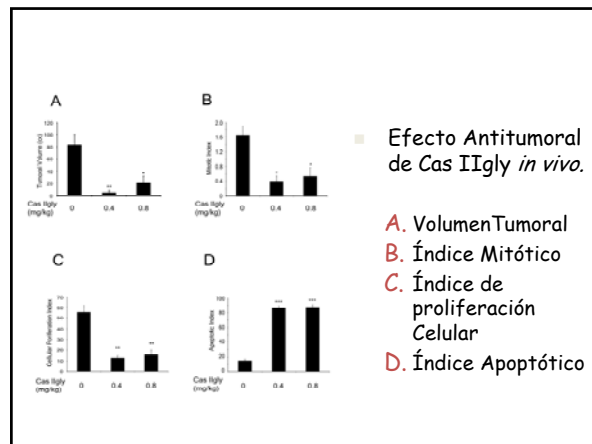
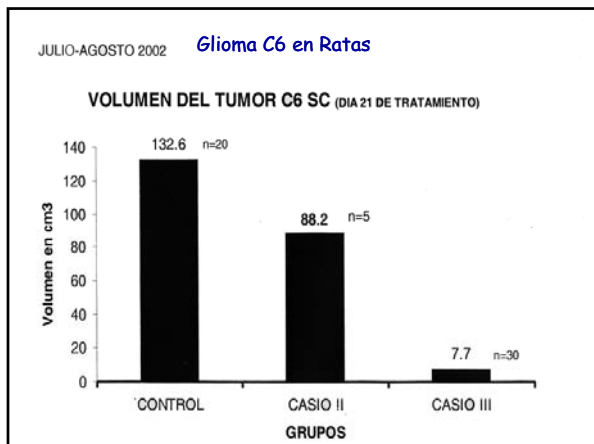
Gracia I., Bravo M.E., Ruiz-Ramirez, et al., *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, (2004)

## Retraso específico de crecimiento de HCT-15 bajo los distintos tratamientos



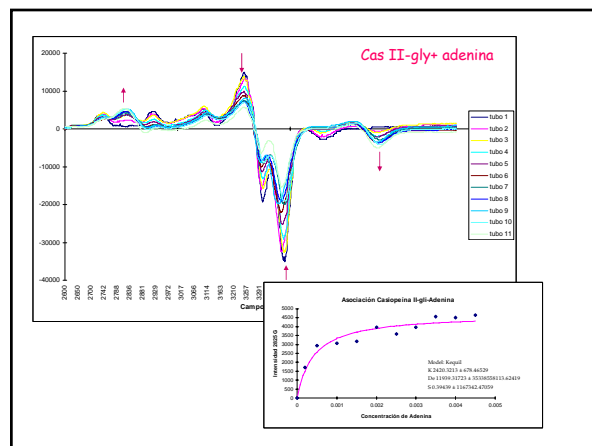
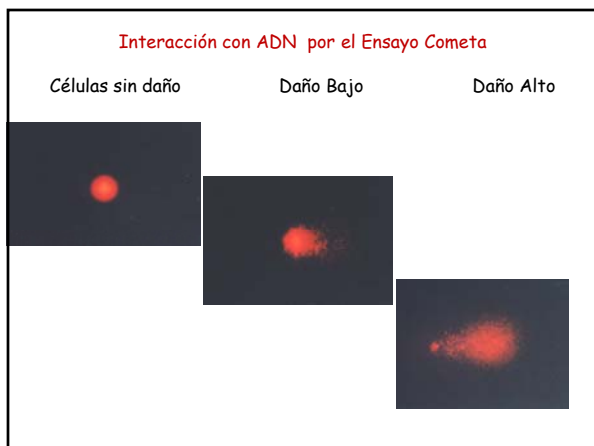
(REC) Retraso específico del crecimiento de HCT-15 (carcinoma de colon) bajo los distintos tratamientos.



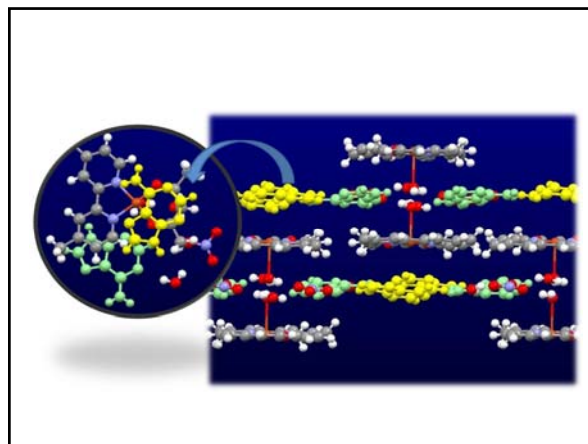
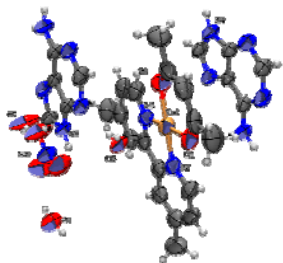


**MECANISMO DE ACCIÓN**

- INTERCALACION en ADN
- INTERCALACION entre Bases
- Generación de Radicales Libres
- Inhibición de la cadena respiratoria en mitocondria



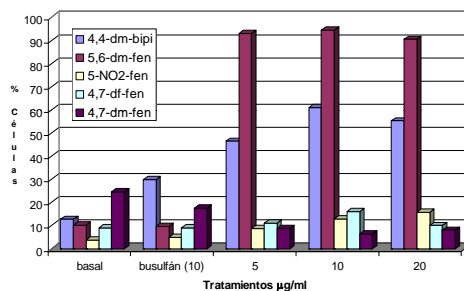
### Casiopeína III-ia/2 adenina



### Inducción de apoptosis

- Microscopía de fluorescencia
- Citometría de Flujo
- Técnicas de Biología Molecular

### Quantificación de apoptosis *in vitro* en células HeLa 24 horas post tratamiento mediante citometría de flujo



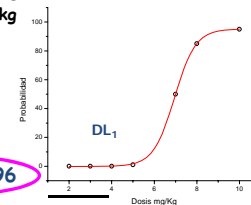
### Toxicidad

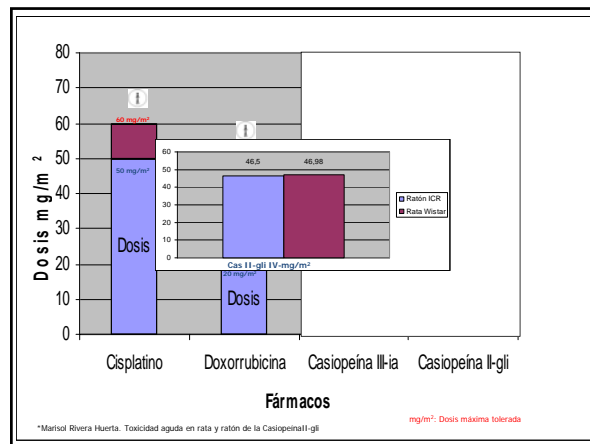
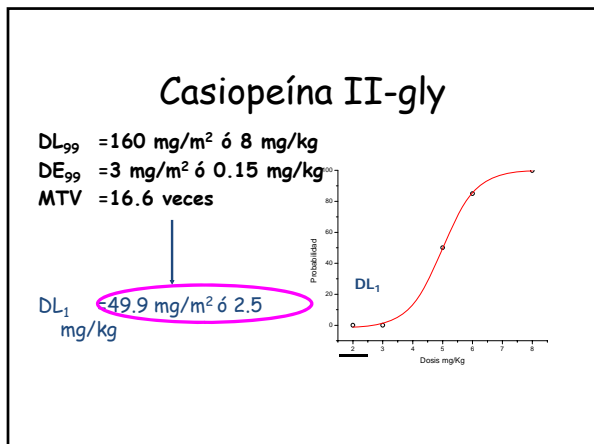
- DL<sub>50</sub> rata y ratón ambos sexos (IV, IP)
- Perro (DL<sub>99</sub>, DL<sub>50</sub>)

### Casiopeína III-ia

DL<sub>99</sub> = 200 mg/m<sup>2</sup> ó 10 mg/kg  
 DE<sub>99</sub> = 18 mg/m<sup>2</sup> ó 0.9 mg/kg  
 MTV = 4.4 veces

DL<sub>1</sub> = 79.2 mg/m<sup>2</sup> ó 3.96 mg/kg

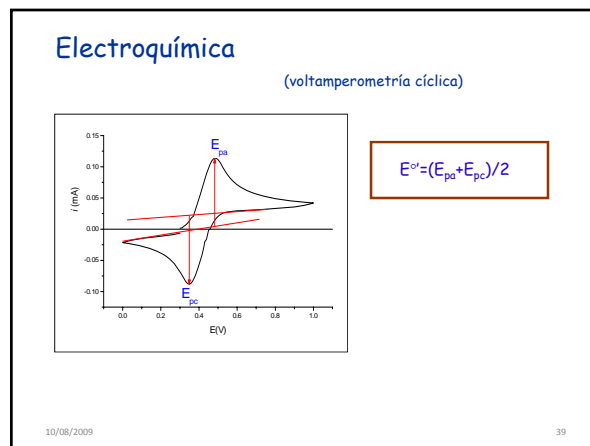
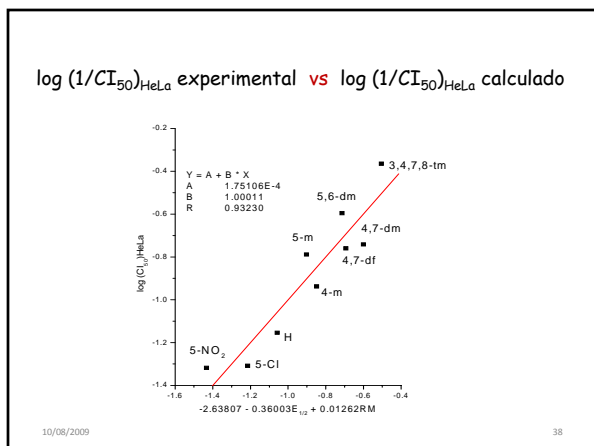
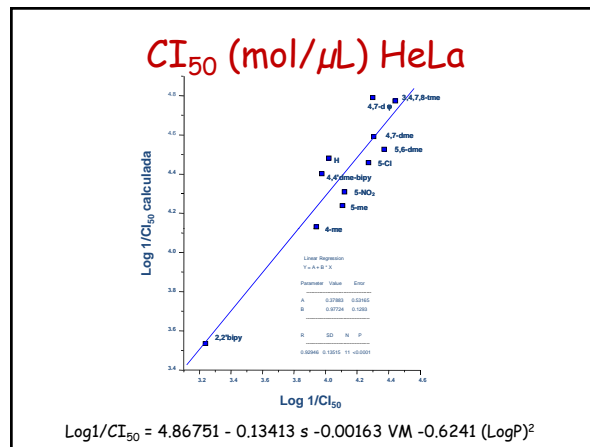




## Correlaciones estructura actividad

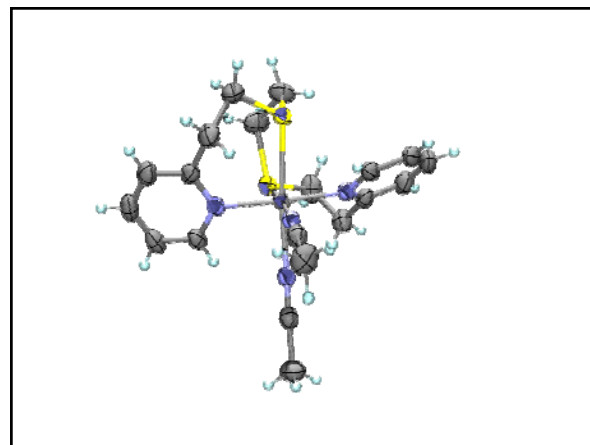
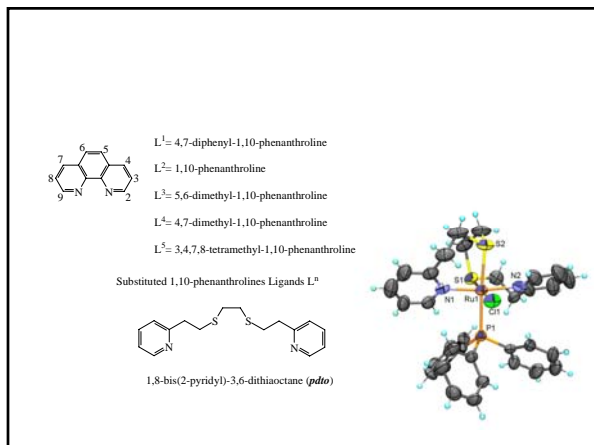
- QSAR

(Quantitative Structure Activity Relationship)



### Conclusiones

- ✓ Patentes
- ✓ Altos rendimientos en síntesis
- ✓ Actividad antineoplásica contundente
- ✓ Baja toxicidad y genotoxicidad
- ✓ Interacción con el ADN
- ✓ Inducción de apoptosis
- ✓ Inhibición de la cadena respiratoria en mitocondria
- ✓ Generación de radicales libres (ROS)
- ✓ Validación de métodos analíticos (FC)



### Casiopeínas

**Casiopeína IIg**

**Casiopeína IIIa**

### Publicaciones

27

*J. Inorg. Biochem.* **1991**, 43, 615. *J. Inorg. Biochem.* **1993**, 51, 406. *Journal of Chemical Research in Toxicology.* **1997**, 10, 1338. *American Ass. For Cancer Research.* **1998**, 39, 141. *Anticancer Research.* **1988**, 18, 4853. *Toxicology in vitro.* **2000**, 14, 1-5. *Proc. West. Pharmacol. Soc.* **1991**, 34, 65. *J. of Inorganic Biochemistry.* **1995**, 59, 206. *American Ass. For Cancer Research.* **1998**, 39, 328. *Human & Experimental Toxicology.* **1998**, 17, 444. *J. of Inorganic Biochemistry.* **1995**, 59, 207. *Anticancer Research.* **1998**, 18, 4936. *Human & Experimental Toxicology.* **1998**, 17, 531. *Mutation Research.* **2000**, 461, 221-228. *J. of Chromatography B.* **2002**, 772, 115. *J. of Chromatography B.* **2003**, 791, 111. *J. of Inorganic Biochemistry.* **1992**, 48, 121. *Inorg. Chim. Acta.* **1999**, 208, 106. *Metal Based Drugs.* **2001**, 8, 1, 29. *Biochemical Pharmacology.* **2003**, 65, 1979-1989. *J. of Hematology.* **2003**, 194, 103-113. *J. of Inorg Biochem.* **2004**, 98, 6, 1045-1053. *Neoplasia.* **2005**, 7, 6, 563-574. *Toxicology and Applied Pharmacology* **215**, **2006**, 208-217. *Nordic Pharmacological Society.* **2007**, 101, 151-158. *Biometals* **2007** DOI: 10.1007/s10534-007-9089-4, *Chem-Biological Interactions*, **2007**, 165, 189-199. *Cancer chemotherapy and Pharmacology.* **2007** Julio 219-228, *Toxicology in Vitro* **22**, **2008**, 710-715