



DESARROLLO DE FARMACOS DE BASE METALICA ANTITUMORALES Y ANTIPARASITARIOS

LENA RUIZ AZUARA

Departamento de Química Inorgánica y Nuclear, Facultad de Química, UNAM,
04510, Grupo de Química Inorgánica Medicinal,
Ciudad Universitaria, D.F. Tel/Fax: 5622-3529.

e-mail: ruizazuara@gmail.com

Introducción

El cáncer constituye hoy día un problema de salud pública no sólo en México, sino en todo el mundo. Los tumores malignos exigen cada vez estructuras hospitalarias más complejas, tecnologías de diagnóstico avanzadas y tratamientos cuyos costos sean menos onerosos. Aunque la quimioterapia ocupa un lugar importante en el tratamiento del cáncer, muchos tumores son totalmente refractarios a ésta. Este hecho ha estimulado el diseño, la síntesis y la evaluación de muchos nuevos agentes en la búsqueda de compuestos con toxicidad reducida y diferentes propiedades biológicas. Por añadidura en México, la necesidad de importación de estos productos y su costo muy elevado, hace que el desarrollo de productos antineoplásicos adquiera prioridad.

En el grupo de investigación se han diseñado compuestos de coordinación con centro metálico con posible actividad antineoplásica. Ejemplos comerciales de compuestos con centro metálico están el cisplatino y el carboplatino, este último menos tóxico que el cisplatino, se incorpora en la terapia anticancerígena a finales de los años 80's. En nuestro grupo nos centramos particularmente a los compuestos de Cu se seleccionaron por sus propiedades estructurales y por su actividad. Cabe mencionar que el desarrollo de las investigaciones en torno a estos compuestos fue supervisado por el Centro para la Innovación Tecnológica de la UNAM ya que los compuestos y su proceso de síntesis se patentaron nacional e internacionalmente nombre de la UNAM con la fórmula general $[Cu(N-N)(E-E)]NO_3$. A la fecha se han sintetizado alrededor de



100 compuestos y con base en los experimentos *in vitro* se procedió al desarrollo de los ensayos *in vivo* probando algunos de estos compuestos que, actualmente reciben el nombre de Casiopeínas[®]. Los compuestos han cubierto de forma más que satisfactoria los requisitos de actividad exigidos internacionalmente tanto *in vitro* (IC50, en líneas tumorales humanas, cérvix, colon, leucemia mieloide crónica meduloblastoma, glioma, neuroblastoma y murinas) como en modelos animales de isotransplatación (L1210, leucemia linfoide; B16, melanoma; LL, carcinoma de pulmón de Lewis, S180, sarcoma) y heterotransplatación (carcinoma de, mama, cérvix, colon y leucemia mieloide crónica), mostrando actividades comparables e incluso superiores al cisplatino; 2 de ellas han cubierto casi en su totalidad las pruebas preclínicas exigidas para el registro de un fármaco (toxicología aguda en tres especies; toxicología reproductiva y genética; farmacocinética); conjuntamente se han obtenido resultados sobre: inducción de apoptosis; mecanismos de acción; correlación estructura-actividad. Y se ha iniciado el estudio clínico Fase I de uno de ellos.

La atención de un problema de Salud Pública tan importante como el cáncer, de extrema importancia no sólo en el país sino en el mundo, aunado a la generación de un fármaco *de novo* en nuestro país, es sin duda, un logro de gran importancia, que ha requerido de la integración de un grupo de trabajo interdisciplinario con participantes de reconocido prestigio trabajando de forma conjunta para ofrecer una alternativa más para uno de los grandes males que aquejan a la humanidad.

Con base a los resultados obtenidos a la fecha podemos afirmar que las **Casiopeínas** presentan una contundente actividad antineoplásica y antitumoral comparable o superior a la del cisplatino, tienen un tiempo de eliminación más corto y la toxicidad mostrada hasta ahora en especies menores es baja. Aunado a esto su costo de producción es considerablemente inferior.

Nuestro grupo de investigación ha generado la segunda generación de Casiopeínas, así como dos nuevos sistemas el de **N6** a base de poliaminas y el sistema **pdto** y sus compuestos mixtos.



SOBRE FARMACOS DE CENTRO METÁLICO Y CASIOPEÍNAS

Generalidades

Numerosos esfuerzos se han llevado a cabo para encontrar tratamientos útiles contra el cáncer, a partir de 1969 Rosenberg reporta la actividad citostática de un compuesto sintético de origen inorgánico que marcó la pauta de una nueva serie de compuestos: Cisplatino (cis-diamino-dicloro-platino (II)).

Muchos tumores son refractarios a este y por ende se inició la búsqueda de nuevos compuestos con las siguientes características:

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

Metalofármacos

La evidencia experimental del cisplatino ha demostrado que los compuestos de coordinación con actividad antineoplásica satisfacen los siguientes postulados:

Con el descubrimiento del *cis*-diaminodicloroplatino (II) en los años sesenta, se ha observado que el compuesto metálico actúa como centro de coordinación para las proteínas y los ácidos nucleicos de las células cancerosas y se ha propuesto que el modo de acción del cisplatino sea semejante al de un agente alquilante o intercalante y que se enlace directamente con el nitrógeno de la posición 7 de las guaninas del ADN.

Como ejemplo de compuestos de coordinación comerciales con actividad antineoplásica tenemos, además del cisplatino al carboplatino. Estos fármacos revolucionaron la quimioterapia a partir de la década de los setentas por ser activos ante tumores resistentes a los fármacos comerciales. Sin embargo el cisplatino presenta una toxicidad importante sobre todo a nivel de nefrotoxicidad, recientemente el carboplatino ha resuelto algunos de los problemas de toxicidad del cisplatino, pero los costos de estos fármacos resultan aún excesivos para terapias que se puedan generalizar a las poblaciones afectadas.

La investigación sobre análogos del cisplatino ha proliferado desde los años setenta, así también la química del paladio, sin resolverse los problemas originales de toxicidad.



En México se han desarrollado compuestos de coordinación de cobre (II), con promisoriosa actividad biológica, en particular contra el cáncer (Ruiz Azuara, 1992, 1996, 1997).

Para el diseño de estos **nuevos fármacos**, como compuestos de coordinación se consideraron las siguientes premisas:

- Utilizar metales de la primera serie de transición que son esenciales para los procesos vitales (Mn, Fe, Co, Ni, Cu y Zn), de estos el cobre (II) presentará la geometría más cercana a los compuestos de platino (II).
- El uso de elementos esenciales disminuiría de manera importante la toxicidad de los posibles fármacos, ya que los organismos tienen procesos homeostáticos para regular los excesos de elementos esenciales.
- Contener ligandos quelatos que aumenten la estabilidad de los sistemas y mantengan la geometría *cis*-, que ya había sido demostrado por Rosenberg, ser la más activa
- Los compuestos presentaran propiedades hidrofóbicas e hidrofílicas, por lo que debían ser quelatos mixtos.
- La variabilidad de sustituyentes químicos en los quelatos podrá generar selectividad preferencial sobre algunos tipos de tejidos tumorales.

Las fórmulas generales de las Casiopeínas (Cas) son:

$[Cu(N-N)(N-O)] NO_3$ o $[Cu(N-N)(O-O)] NO_3$ donde, (N-N) = fenantrolinas o bipyridinas substituidas, (N-O) = aminoácidos ó péptidos y (O-O) = acetilacetato o salicilaldehidato.

A partir de 1980 se inician trabajos de constatación biológica *in vitro* con base en el postulado de que pueden tener actividad citotóxica sobre cultivo de bacterias y microorganismos, en 1988 se comprueba la actividad citostática sobre cultivo de linfocitos.

A la fecha, de los compuestos con cobre, CASIOPEÍNAS, se han sintetizado alrededor de 100 nuevos compuestos y con base en los experimentos *in vitro* de las siguientes casiopeínas, Cas Igly, Cas IIgly, Cas IVgly, Cas VIIgly, Cas Iser, Cas IIser, Cas Vser, Cas III-ia= 4,4-dm bipi acac, Cas III-Ea= 4,7-dm fen acac, se procedió al desarrollo de los ensayos *in vivo* evaluando algunos de estos compuestos. Actualmente, varias de estas han demostrado actividad antineoplásica *in vivo* en los ensayos exigidos dentro del panel de cernimiento del "Cancer Chemotherapy National Service Center" del "National Cancer Institute" de los Estados Unidos Americanos y que contemplan el uso de líneas tumorales murinas transplantables en cepas singénicas como: leucemia L1210, sarcoma S180, melanoma B16. Estos resultados indican de manera que la sustitución en las diiminas modifica el grado de actividad y la modificación del ligante iónico (N-O u O-O) es responsable de la selectividad del fármaco hacia el tipo de tumor. Así mismo se han llevado a cabo ensayos de toxicidad obteniéndose las dosis letales 50 (DL₅₀) agudas



en ratones y ratas de ambos sexos por dos vías de administración para las casiopeínas IIgly y/* III-ia.

Vale la pena señalar que las Casiopeínas han sido patentadas y registradas a nombre de la UNAM (Ruiz, 1992, 1996, 1997).

EL PROCESO DE DESCUBRIMIENTO DE UN NUEVO FÁRMACO

Los primeros pasos en el proceso de descubrimiento de un nuevo fármaco inician cuando se tiene un compuesto químico interesante y útil para propósitos médicos, sin embargo, se necesitan datos fisicoquímicos disponibles que sugieran que el compuesto promete tener suficiente garantía para seguirlo como un proceso de fármaco nuevo. Desde el momento en que se decide seguirlo como nueva entidad química (IND) para propósitos de nuevo fármaco se solicita información concerniente a su eficacia y seguridad.

El desarrollo de nuevas moléculas para ser fármacos y posteriormente medicamentos, puede verse resumido en la siguiente figura, así como los costos requeridos.

Desarrollo de fármacos



Costos : 600-800 millones de dólares por molécula

En el proceso de desarrollo de un fármaco en su fase preclínica se busca conducir los ensayos toxicológicos y farmacológicos más relevantes en animales. Basados en estos resultados, con una adecuada interpretación y con la ayuda de farmacocinética de manera integral, se hace una proyección razonable a humanos.



Aunque la mayoría de los estudios preclínicos consisten en pruebas *in vivo* en varias especies animales, es conveniente realizar experimentos *in vitro* como la determinación de unión a proteínas plasmáticas.

Bajo las regulaciones actuales por la FDA, se requieren datos preclínicos para la propuesta de IND (Propuesta de Nuevo fármaco), como son los resultados farmacológicos en animales, disposición del fármaco y estudios toxicológicos para probar adecuadamente el conocimiento sobre los antecedentes y experiencias para guiar la decisión hacia las investigaciones clínicas pertinentes.

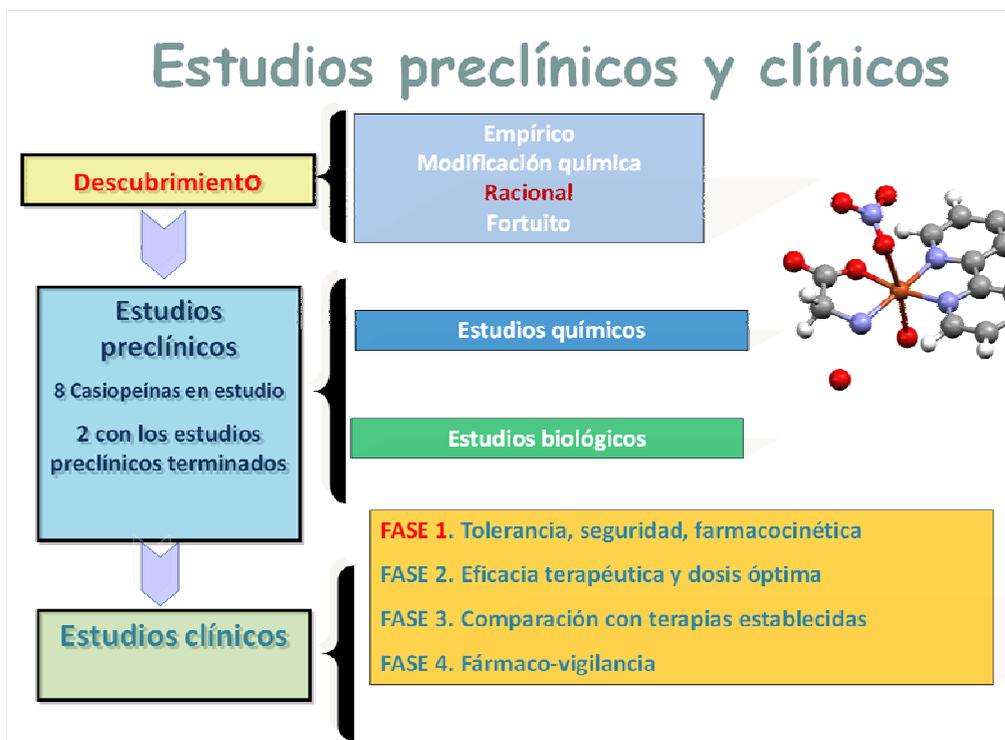
Los estudios de ADME (absorción, distribución, metabolismo y excreción) se realizan por lo menos en dos especies, comúnmente rata y perro (pudiendo ser otras especies como conejo y cerdo), a veces se conducen en la fase pre-IND y por lo menos los resultados generalmente incluyen pruebas en dosis orales e intravenosas.

Actualmente existen variaciones considerables dentro de la industria farmacéutica en la conducta específica de estos estudios, y en el tipo y extensión de los datos obtenidos. Para facilitar el proceso de evaluación de un fármaco, hay un deseo en aumento de parte de las agencias regulatorias y la industria de tener una guía práctica para las pruebas preclínicas sobre metabolismo de fármacos y estudios de disposición. Muchas guías se han reportado conteniendo recomendaciones específicas y han sugerido procedimientos implementados por compañías farmacéuticas en varias etapas. Para mejorar el entendimiento racional de los estudios que constituyen el paquete ADME preclínico, es apropiado primero establecer los objetivos generales de investigación farmacocinética aplicados al desarrollo del fármaco en las pruebas preclínicas.

Avance a la fecha el proyecto ha generado publicaciones, patentes y se han formado decenas de estudiantes realizando tesis tanto a nivel licenciatura como en posgrado.

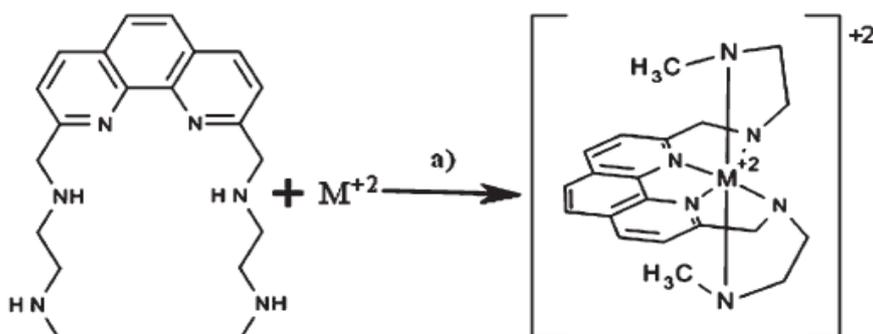
De las varias decenas de casiopeínas estudiadas con base a los estudios correlación estructura-actividad, se han seleccionado 8 para continuar con los estudios preclínicos necesarios, de esos 8 compuestos 2 cuentan con los estudios preclínicos terminados y en breve se iniciaran los estudios clínicos Fase I

En la siguiente figura se indican los pasos necesarios para llegar a las fases clínicas



Sistemas N6 y pdto.

Estos sistemas se encuentran en la etapa de síntesis, caracterización y pruebas de evaluación antiproliferativa y antiparasitaria.

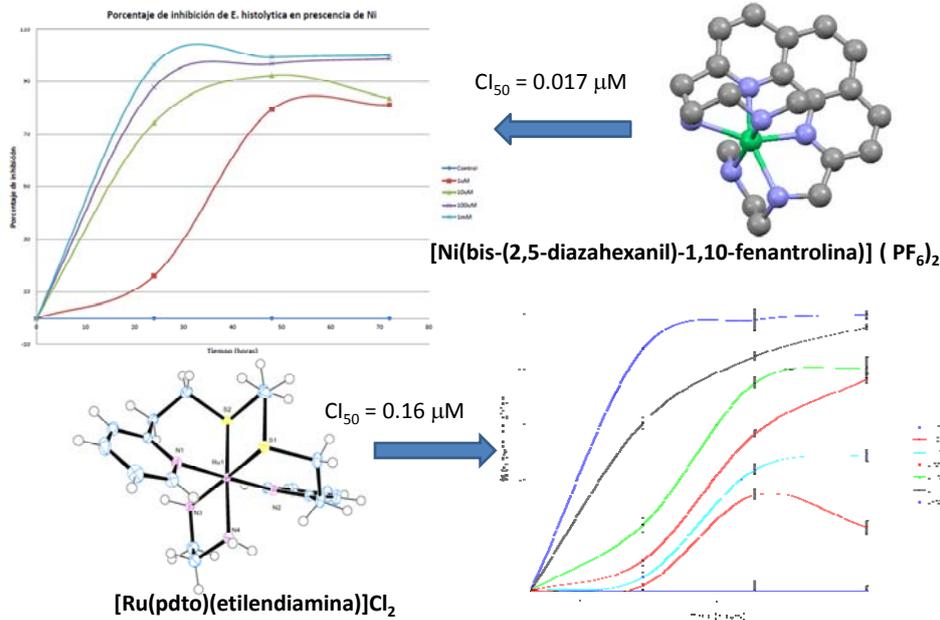


Scheme 2 General structure suggested for the coordination compounds synthesised with $M^{2+} = \text{Mn, Fe, Co, Ni, Cu}$ and Zn . (a) 1, solution pH adjusted to 7 by adding NaOH ; 2, $[(\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3)_4\text{NPF}_6]$ was added to obtain the precipitated compounds.

Sistemas pdto.

Actividad amebicida

Fármaco de primera elección:
metronidazol $Cl_{50} = 6.5 \mu M$



Bibliografía General

-Lena Ruiz Azuara and Ma Elena Bravo, Copper Compounds in Cancer Chemotherapy, *Current Medicinal Chemistry*, (2010),17, N 31, 3606-3615,

-Alejandra Idan Valencia-Cruz, Laura I. Uribe-Figueroa, Rodrigo Galindo-Murillo, Karol Baca-López, Anllely G. Gutiérrez, Adriana Vázquez-Aguirre, Lena Ruiz-Azuara, Enrique Hernández-Lemus, Carmen Mejía. "Whole genome gene expression analysis reveals casiopeína-induced apoptosis pathways. *Plos One* (2013) (31/01/2013) V8, Issue 1, e54664. (18 p).

-García-Ramos, Juan Carlos; Toledo-Magaña, Yanis; Talavera-Contreras, Luis Gabriel; Flores-Alamo, Marcos; Ramírez-Delgado, Vanessa; Morales-León, Emmanuel; Ortiz-Frade, Luis Antonio; Vázquez-Aguirre, Adriana; Gutiérrez, Anllely; Mejía, Carmen; Carrero, Julio Cesar; Lacleite San Román, Juan Pedro; Ruiz-Azuara, Lena. Potential antitumor and amoebicidal activity of first row transition metals compounds with 2, 9-Bis-(2', 5'-diazahexanyl)-1, 10-phenanthroline (L1). *Dalton Trans.* (2012) V31, N34, 10164-10174