



---

---

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

EVALUACIÓN DEL EFECTO GENOTÓXICO Y CITOTÓXICO DEL  
COMPUESTO COORDINADO DE COBRE LQM 402 MEDIANTE EL  
ENSAYO DE MICRONÚCLEOS *IN VIVO*.

# TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
**QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

PRESENTA:

**CLAUDIA HERNÁNDEZ MERCADO**

ASESOR

DRA. SANDRA DÍAZ BARRIGA ARCEO

CUAUTITLÁN IZCALLI, EDO DE MÉXICO 2012.



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



---

**ÍNDICE**

<b>Índice de figuras</b> .....	III
<b>Índice de gráficos</b> .....	V
<b>Índice de tablas</b> .....	VI
<b>Abreviaturas</b> .....	VII
<b>Resumen</b> .....	1
<b>Marco teórico</b>	
I. Ciclo celular	
a. Ciclo celular .....	2
b. Regulación del ciclo celular.....	5
c. Apoptosis .....	10
d. Ciclo celular del cáncer.....	11
II. Cáncer	
a. Definición.....	13
b. Tipos de cáncer .....	13
c. Origen del cáncer .....	14
d. Tratamientos .....	15
III. Antineoplásicos	
a. Definición y clasificación de los antineoplásicos .....	16
b. Antineoplásicos organometálico.....	18
b.1. Compuestos de platino.....	18
b.2. Compuestos de rutenio.....	22
b.4. Compuestos de iridio y rodio.....	25
b.3. Compuestos de renio .....	26
b.4. Compuestos de oro.....	28
b.5 Compuestos con metales representativos .....	30



---

b.6. Compuestos de titanio.....	33
b.7. Compuestos de fierro.....	34
b.8. Compuestos de cobre.....	35
IV. Ensayo de Micronúcleos	
a. Historia.....	39
b. Fundamento .....	40
c. Evaluación de otros antineoplásicos .....	42
V. Antecedentes del compuesto LQM 402	
a. Propiedades del compuesto LQM 402 .....	43
b. Estudios preclínicos de los nuevos fármacos.....	44
<b>Justificación.....</b>	<b>46</b>
<b>Objetivos.....</b>	<b>47</b>
<b>Hipótesis .....</b>	<b>48</b>
<b>Material y método.....</b>	<b>49</b>
<b>Resultados .....</b>	<b>52</b>
<b>Discusión.....</b>	<b>59</b>
<b>Conclusiones.....</b>	<b>63</b>
<b>Referencias .....</b>	<b>64</b>

**Índice de figuras**

Figura 1. Esquema del ciclo celular normal .....	- 3 -
Figura 2. Esquema de la Fase M.....	- 4 -
Figura 3. Combinaciones de cdk-ciclina durante el ciclo celular.....	- 6 -
Figura 4. Puntos de control del ciclo celular.....	- 7 -
Figura 5. Punto de restricción en G <sub>1</sub> y el primer punto de control CDK <sup>2</sup> -ciclina E.....	- 8 -
Figura 6. Segundo y tercer puntos de control del ciclo celular .....	- 9 -
Figura 7. Vía molecular de la apoptosis.....	- 11 -
Figura 8. CDK 1 en el ciclo celular de células cancerosas.....	- 12 -
Figura 9. Clasificación de los quimioterapéuticos.....	- 17 -
Figura 10. Estructuras de compuestos coordinados de platino.....	- 19 -
Figura 11. Compuestos del tipo trans-platino.....	- 20 -
Figura 12. Esquema de la reacción de hidrólisis del cisplatino y su interacción con N <sup>7</sup> de guanina .....	- 21 -
Figura 13. Aductos formados por los compuestos de platino con el DNA .....	- 21 -
Figura 14. Estructura de los compuestos de rutenio.....	- 23 -
Figura 15. Complejos de rutenio (II/III).....	- 24 -
Figura 16. Estructura de los compuestos de iridio rodio .....	- 25 -
Figura 17. Estructura de los compuestos de renio .....	- 26 -
Figura 18. Compuestos de Renio con alto potencial antiproliferativo .....	- 27 -



---

Figura 19 . Estructura de los compuestos de oro.....	- 29 -
Figura 20. Estructura de los compuestos de germanio.....	- 30 -
Figura 21. Compuestos de Galio.....	- 31 -
Figura 22.Estructura de los compuestos de estaño.....	- 32 -
Figura 23. Compuestos de Os.....	- 33 -
Figura 24. Mecanismo de acción del los compuestos de titanio. ....	- 34 -
Figura 25. Compuestos de mayor uso en tratamientos anticancerígenos.....	- 34 -
Figura 26. Estructura del ferrocene.....	- 35 -
Figura 27. Estructuras de los compuestos de cobre.....	- 36 -
Figura 28. Reacción del compuesto 29 con peróxido para su activación.....	- 37 -
Figura 29. Estructura de las casiopeinas Igly, IIgly, III-I-a; respectivamente.....	- 38 -
Figura 30. Fotografía de frotis sanguíneo de ratón, al centro se encuentra un EPC-MN, tinción con Giemsa, 100x.....	- 39 -
Figura 31. Fotografía de frotis sanguíneo de ratón, en donde 1: ENC, 2: EPC y 3: EPC-MN, tinción con Giemsa, 100x.....	- 40 -
Figura 32. Formación de MN por el tratamiento con clastógenos o aneuploidógenos y su diferenciación en EPC o ENC con tinción de Giemsa.....	- 41 -



## Índice de gráficos

Gráfico 1. Porcentaje (%) de EPC de la evaluación de citotoxicidad del compuesto LQM 402, en sangre periférica de ratón CD1.....	- 54 -
Gráfico 2. Resultados del % EPC a las 48 hrs para la evaluación de citotoxicidad del compuesto LQM 402, en sangre periférica de ratón CD1.....	- 54 -
Gráfico 3. Resultados del % EPC a las 72 hrs para la evaluación de citotoxicidad del compuesto LQM 402, en sangre periférica de ratón CD1.....	- 55 -
Gráfico 4. Porcentaje (%) de la frecuencia de EPC-MN en 2000 EPC, en sangre periférica de ratón CD1, para la evaluación de genotoxicidad del compuesto LQM 402..	- 57 -
Gráfico 5. Resultados de EPC-MN a las 48 hrs, tiempo de máxima inducción, en la evaluación de genotoxicidad del compuesto LQM 402, en sangre periférica de ratón CD1. ....	- 58 -
Gráfico 6. Resultados de EPC-MN a las 72 hrs para la evaluación de genotoxicidad del compuesto LQM 402, en sangre periférica de ratón CD1.....	- 58 -



## Índice de tablas

Tabla 1. Resumen de la evaluación de genotoxicidad y citotoxicidad mediante el ensayo de MN <i>in vivo</i> .....	- 42 -
Tabla 2. Dosificación de los lotes.....	- 50 -
Tabla 2. Resultados del %EPC y su error estándar, obtenidos en los diferentes tiempos de la evaluación de citotoxicidad del compuesto LQM 402.....	- 53 -
Tabla 3. Resultados de la frecuencia de EPC-MN obtenidos en los diferentes tiempos de la evaluación de genotoxicidad del compuesto LQM 402.....	- 57 -





---

**Abreviaturas**

**ANOVA** Análisis de varianza

**ARN** Ácido ribonucleico

**ATP** Adenosín trifosfato

**CDK** Cinasas dependientes de ciclinas

**CIP** Proteínas inhibidoras de cdk's

**Ctrl +** Control positivo

**Ctrl –** Control negativo

**DNA** Ácido desoxirribonucleico

**D<sub>1</sub>** Dosis 1

**D<sub>2</sub>** Dosis 2

**D<sub>3</sub>** Dosis 3

**D<sub>1</sub>T** Dosis 1 y control positivo

**D<sub>2</sub>T** Dosis 2 y control positivo

**D<sub>3</sub>T** Dosis 3 y control positivo

**ENC** Eritrocitos normocrómico

**EPC** Eritrocitos policromáticos

**EPC/MN** Eritrocitos policromáticos  
micronucleados

**Hrs** Horas

**INK** inhibidora de cinasa

**LQM** Laboratorio de química medicinal

**MMC** Mitomicina C

**MN** Micronúcleo

**MPF** Factor promotor de la maduración

**T<sub>0</sub>** 0 horas después de la administración

**T<sub>1</sub>** 24 horas después de la administración

**T<sub>2</sub>** 48 horas después de la administración

**T<sub>3</sub>** 72 horas después de la administración



## RESUMEN

El compuesto LQM 402, con un centro de cobre, tiene potencial anticancerígeno, es posible que tenga mecanismo de acción igual o parecido al del cis-platino, pero se espera que sea menos toxico, por que el cobre se encuentra en el organismo de forma natural, además de intervenir en funciones vitales.

Este trabajo es parte de los estudios preclínicos para que este compuesto pueda probarse en humanos. Se evaluó el potencial genotóxico y citotóxico del compuesto LQM 402, mediante el ensayo de micronúcleos *in vivo*, se utilizaron ratones macho CD 1 , ya que si se tiene todo el organismo completo se obtiene un perspectiva de cómo es metabolizado y los efectos que produce en el organismo completo.

Se cuantificó la frecuencia de EPC en 2000 Eritrocitos totales, para evaluar la citotoxicidad, y para la frecuencia de MN se cuantificaron 2000 EPC.

Los resultados obtenidos en las tres dosis evaluadas nos indican que la genotoxicidad del compuesto LQM 402 no es dependiente de la dosis pero si del tiempo, mientras que la citotoxicidad aumenta pero hasta cierta dosis donde ya se mantiene constante y si es dependiente del tiempo.

En los tratamientos de reto al compuesto LQM 402 contra el mutágeno MMC, los resultados obtenidos muestran que el efecto citotóxico es parecido al de las dosis sin mutágeno, mientras que el efecto genotóxico de la MMC es inhibido por el compuesto LQM 402.



## MARCO TEÓRICO

### I. CICLO CELULAR

#### a. Ciclo celular normal

De acuerdo a la teoría celular establecida por el biólogo alemán Rudolf Virchhoff en el siglo XIX, “las células sólo provienen de células”. Las células existentes se dividen a través de una serie ordenada de pasos denominados ciclo celular; la célula aumenta su tamaño, el número de componentes intracelulares (proteínas y organelos), duplica su material genético y finalmente se divide (Figura. 1). El ciclo celular como fue definido por A. Howard y S.R. Pelc en 1953, posee dos fases principales (Quillo, 2011) (Passarge, 2010):

1) Interfase, es el periodo de crecimiento y desarrollo que se extiende entre las divisiones celulares que consta de:

- Fase G<sub>1</sub> (Gap, presintética o intervalo): Es una fase de crecimiento durante la cual realiza sus funciones características y se decide a comenzar con la síntesis del DNA y cuando hacerlo (Welsch,2009).
- Fase de síntesis (S): En esta etapa la célula duplica su material genético para pasarle una copia completa del genoma a cada una de sus células hijas (Núñez, 2005). Durante la fase S la doble hélice se abre, con las helicasas y las proteínas de unión a las monocadenas del DNA. En sitios diversos del genoma, separados entre sí por unos 100000 pares de nucleotidos, comienza la duplicación (replicación). La polimerización es catalizada por la DNA polimerasa y la primasa. Se asegura que cada región del DNA se duplique solo una vez (Welsch,2009).
- Fase G<sub>2</sub> (Gap, premitótica o intervalo): Es la fase en la que se verifica la exactitud de la duplicación del DNA y se corrigen los errores (Welsch,2009).

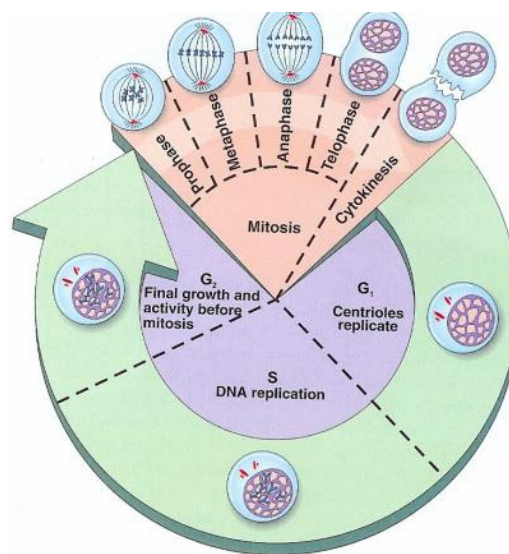


Figura 1. Esquema del ciclo celular normal. (Núñez; 2005)

## 2) Fase M

Mitosis (M): En esta fase se reparte a las células hijas el material genético duplicado, a través de la segregación de los cromosomas. La fase M, para su estudio se divide en (Núñez, 2005):

- Profase: En esta etapa la heterocromatina de los cromosomas (constituidos de dos cromátidas hermanas) se condensa en el núcleo, mientras en el citoplasma se disuelven los microtúbulos y comienza a ensamblar el huso acromático entre los centrómeros (Núñez, 2005) (Welsch, 2009).
- Prometáfase: Se disuelve la envoltura nuclear, el huso acromático es terminado y los cromosomas empiezan a migrar al centro de la célula (Karp, 2009).
- Metáfase: Los cromosomas se unen al huso acromático (mediante los cinetocoros, del centrómero). Una vez unidos los cromosomas estos se alinean en el ecuador de la célula (Núñez, 2005) (Deborah, 2010).
- Anafase: Se produce la separación de las cromátidas hermanas, al ser separadas por el centrómeros anclado al huso acromático, las cuales dan lugar a dos cromosomas

hijos, los cuales migran hacia polos opuestos de la célula (Núñez, 2005) (Deborah, 2010) (Karp, 2009).

- **Telofase:** Aquí ambos juegos de cromosomas llegan a los polos de la célula y adoptan una estructura menos densa, posteriormente se forma nuevamente la envoltura nuclear, por lo tanto queda una célula con dos núcleos. Al finalizar esta fase, la división del citoplasma y sus contenidos comienza con la formación de un anillo contráctil y la desaparición del huso acromático (Núñez, 2005) (Deborah, 2010).
- **Citocinesis:** Finalmente se divide la célula mediante el anillo contráctil de actina y miosina, produciendo dos células hijas cada una con un juego completo de cromosomas (Núñez, 2005).

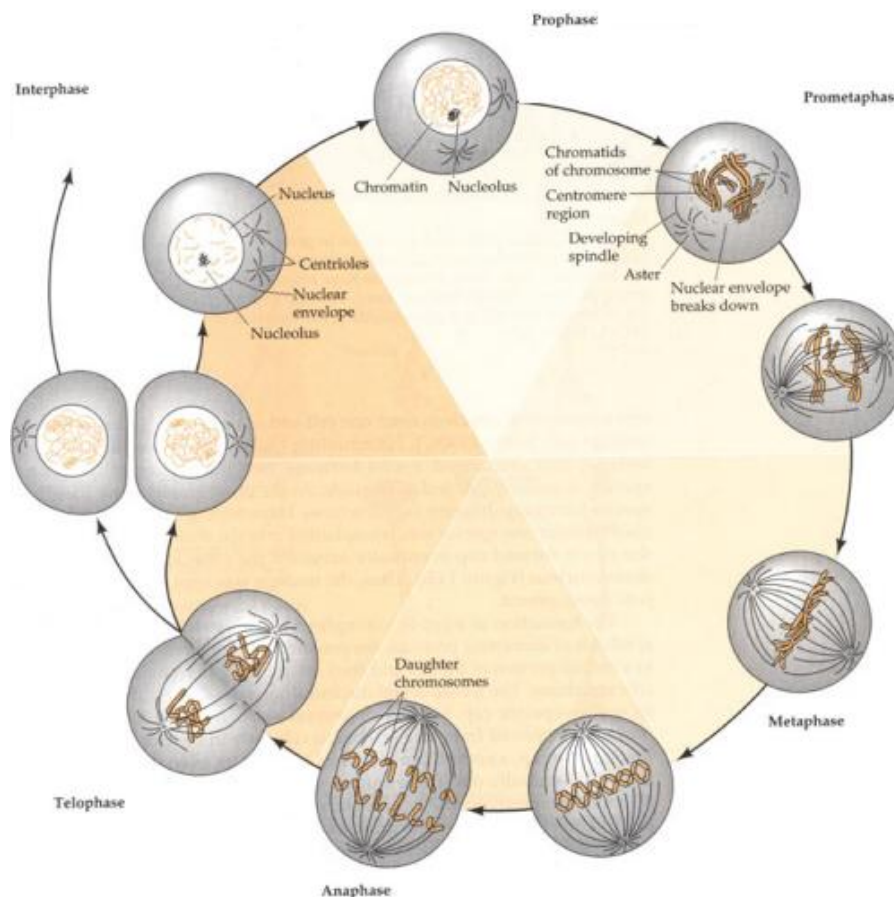


Figura 2. Esquema de la Fase M. (Karp, 2009)

Fase  $G_0$ : Al final de la fase M las células pueden entrar o no en la Fase  $G_1$ , cuando ya no se requieren más células, estas entran en un estado denominado Fase  $G_0$ . Esta es la fase de trabajo estable, de larga duración, estas células reciben el estímulo adecuado abandonan el estado  $G_0$  y entran al  $G_1$ . Algunas poblaciones celulares altamente especializadas como las fibras musculares o neuronas al entrar en estado  $G_0$  abandonan indefinidamente el ciclo celular, en la cual se entran muchas células del cuerpo (Welsch, 2009) (Núñez, 2005) (Quillo, 2011).

b. Regulación del ciclo celular

El conjunto de procesos que ocurren durante el ciclo celular, llevan un orden y supervisión estrictos. Señales provenientes del medio y algunos controladores dentro de la célula, se encargan de dirigir el progreso de ésta a través de las distintas fases del ciclo celular. Entonces hay una regulación extracelular y una regulación intracelular (Núñez; 2005).

El control interno del ciclo celular está a cargo de proteínas, cuyas acciones podrían resumirse en series de activaciones e inhibiciones de otras proteínas, que son indispensables durante las fases del ciclo. Los principales efectores de esta regulación, son dos: las proteínas que permiten el progreso del ciclo y las llamadas inhibidores de este (Quillo, 2011).

Los complejos cdk-ciclina (MPF, factor promotor de la maduración), están formados por dos moléculas ciclinas y cinasas. Las cdk (cinasa dependiente de ciclina) (cdk 1, 2, 4 y 6) transfieren un fosfato del ATP (adenosín trifosfato) a los aminoácidos serina y treonina de proteínas que funcionan como sustratos específicos. Las ciclinas (ciclinas A, B, D y E) cambiando de concentración según la fase del ciclo celular en el que se encuentra la célula. Se conocen 6 distintas combinaciones de cdk-ciclina que actúan en tiempos específicos durante el ciclo como se muestra en la figura 3 (Karp, 2009) (Núñez; 2005).

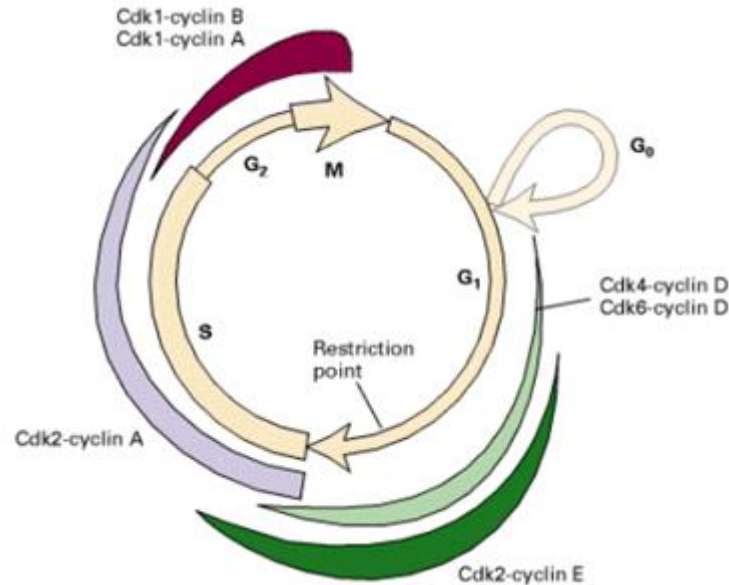


Figura 3. Combinaciones de cdk-ciclina durante el ciclo celular. (Núñez; 2005)

Dos pequeñas familias de proteínas, las CIP (proteínas inhibidoras de cdk's) y las INK4 (inhibidoras de cinasa 4). Llamadas en conjuntos inhibidores de cdk (CKI). Las INK4, se unen e inhiben sólo los complejos cdk4-ciclina D y cdk6-ciclina D, la única caracterizada es la p16 (p= fosfoproteína y el número es su peso en kDa) (Núñez; 2005).

Las CIP se unen e inhiben a todos los complejos que tengan CDK 1, 2, 4 y 6, actualmente se conocen las: p21, p27 y p53, factores de transcripción tienen la función de impedir la proliferación celular. La mutación de los genes que las codifican y/o la pérdida de función de estas proteínas, resulta en la pérdida de control sobre el ciclo celular y la incapacidad para detenerlo, (proliferación celular con errores). Por su acción normal, a los genes que codifican estas proteínas se les denominaron “genes supresores de tumores” (Núñez; 2005) (Quillo, 2011).

Para el control del ciclo celular, se postularon cuatro puntos en los se controla a la célula y al medio extracelular para dar lugar o restringir las acciones propias de cada una de las fases del ciclo. Estos cuatro puntos son: un punto de restricción y tres puntos de control como se muestra en la figura 3 (Núñez; 2005).

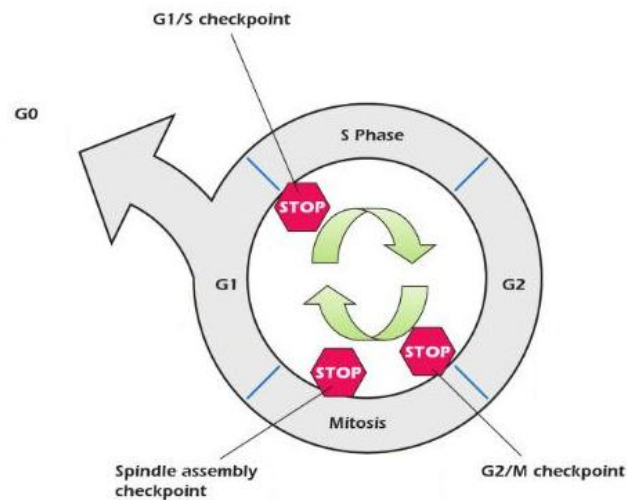


Figura 4. Puntos de control del ciclo celular. (Stephen; 2011)

El punto de restricción se encuentra casi al final de  $G_1$  se conoce así puesto que si la célula pasa a la fase S se encuentra “comprometida” irreversiblemente a entrar al ciclo celular, independientemente de lo que suceda en el exterior, este punto está principalmente controlado por el medio y depende de su capacidad de inducción (Quillo, 2011).

Los responsables intracelulares del paso a través de este punto, son los complejos CDK4–ciclina D y CDK6 –ciclina D, como se observa en la figura 3, que “liberan” al factor de transcripción E2F que interactúa con la proteína Rb (proteína del Retinoblastoma), las CDK tienen que fosforilar a la proteína Rb para que libere a E2F. El E2F estimula la síntesis de: CDK2–ciclina E (necesarios para el progreso de  $G_1$  a S). La inactivación de Rb es mantenida a lo largo del ciclo por la concentración de distintos complejos CDK–ciclina pero, una vez que las ciclinas se degradan, el Rb es de nuevo activo, y se une al E2F, como se observa en la figura 4 (Stephen, 2011) (Malumbres, 2009).



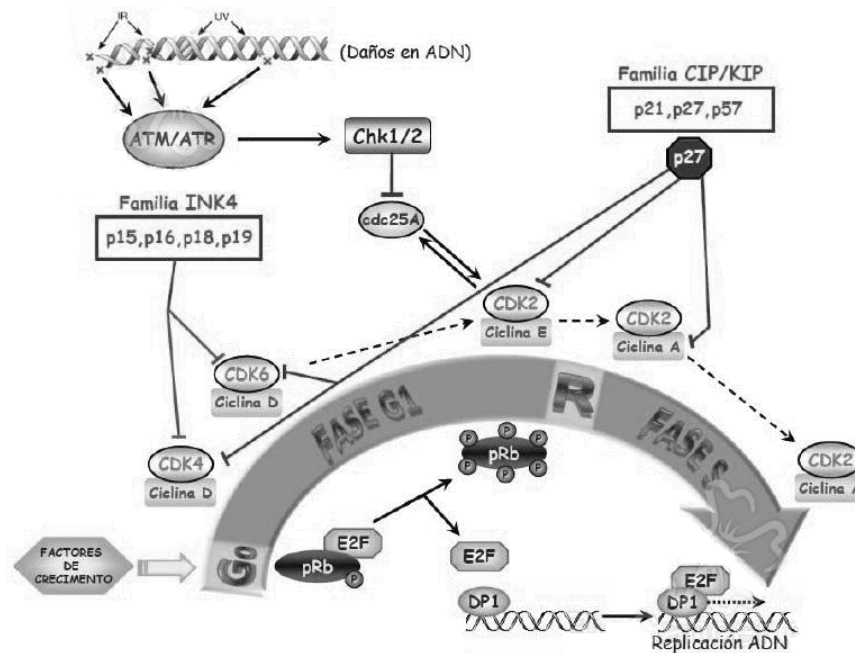


Figura 5. Punto de restricción en G<sub>1</sub> y el primer punto de control CDK<sup>2</sup>-ciclina E. (Biocancer.com, 2010)

Los puntos de control son, pequeños retenes donde se revisan distintas características del medio y de la célula misma, la célula debe estar sana y el medio debe ser lo suficientemente bueno para que continúe el ciclo celular. Tienen la función de mantener la integridad y la fidelidad de la replicación del genoma. Pero además de ello, los controladores implicados en estos puntos tienen la capacidad de “llamar” a otras moléculas a reparar cuando el material genético está dañado, o a terminar distintos procesos (Núñez, 2005).

El primer punto de control, se encuentra justo después del punto de restricción, aún en G<sub>1</sub>; se encarga de: revisar las condiciones del medio, buscando factores externos que induzcan el progreso del ciclo celular, revisar que la célula haya crecido lo suficiente y que el material genético esté intacto, participan el complejo CDK<sup>2</sup>-ciclina E, como se observa en la figura 5, también se encarga de inactivar a Rb y disminuir la concentración de p27, además de favorecer el trabajo de E2F para que estén listas las enzimas necesarias para comenzar la síntesis de DNA en la fase S. Los encargados de la inhibición en este punto de

control son un factor de transcripción y una CIP: la p53 y la p21. El complejo CDK2-ciclina B, es esencial para la replicación del DNA (Malumbres, 2009).

El segundo punto de control se encuentra al final de G<sub>2</sub>. Los complejos CDK1- ciclina A y CDK1-ciclina B permiten el paso a través de este punto. El segundo punto de control se encarga de revisar: que el material genético se haya duplicado completamente, que el material genético no tenga errores y que el medio extracelular sea adecuado como se muestra en la figura 6 (Núñez, 2005) (Malumbres, 2009).

Tercer punto de control, se encuentra en la fase M, entre la metafase y la anafase. Se encarga de revisar que todos los cromosomas se hayan unido al huso acromático. Si detecta que uno de los cinetocoros no se encuentra unido, manda una señal negativa al sistema de control bloqueando la activación de proteínas implicadas en la separación de las cromátidas hermanas. La mal segregación de cromosomas es debido a daños en CDK1 (Núñez, 2005) (Malumbres, 2009).

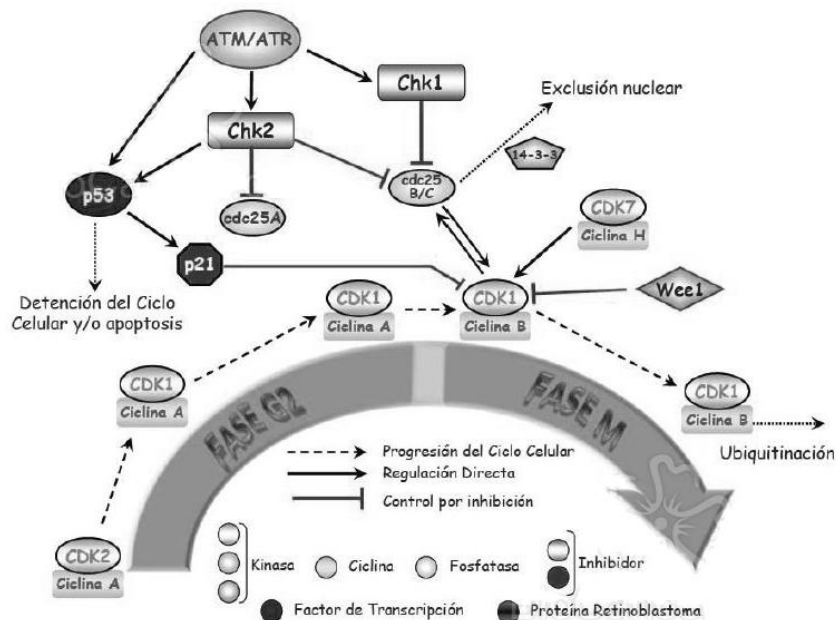


Figura 6. Segundo y tercer puntos de control del ciclo celular. (Biocancer.com, 2010)

### c. Apoptosis

Las células en un organismo forman una comunidad organizada, donde el número de células en esta comunidad está estrictamente regulado; si una célula ya no es requerida esta muere o se “suicida” por apoptosis (muerte celular programada) tal como lo sugiriere Karr en 1972. Si no se produce la apoptosis pueden surgir fallas en el organismo o cáncer (Núñez, 2005) (Passarge, 2010).

La apoptosis a diferencia de la necrosis es un proceso ordenado, la célula muere “limpiamente” sin dañar a sus células vecinas con el contenido de su citoplasma, ya que la apoptosis esta regulada por una compleja vía de proteínas las cuales disparan o impiden la apoptosis, puede ser desencadenada por factores externos y por factores internos a la célula (Núñez, 2005) (Passarge, 2010) (Rommy, 2012).

Los primeros signos de que una célula esta en apoptosis es la condensación del núcleo y que reduce su tamaño, la membrana celular se arruga y se colapsa el citoesqueleto, la membrana nuclear se destruye, el DNA se fragmenta y se forman cuerpos apoptóticos con lo que finalmente la superficie de la célula cambia de manera que puede ser reconocida por células vecinas o macrófagos para ser fagocitada. La maquinaria intracelular de la apoptosis depende de una familia de proteasas llamadas caspasas que cortan a la proteína blanco en residuos de aspartato (Rommy, 2012) (Passarge, 2010).

Las caspasas se encuentran en las células en forma inactiva (procaspasas) las cuales son activadas por un corte proteolítico, estas a su vez activan otras procaspasas en una cascada de amplificación Las caspasas cortan proteínas clave en la célula como la laminina que al romperse desintegra la membrana nuclear y degradan a la enzima que inactiva a la DNAsa ocasionando la degradación del material genético (Núñez; 2005) (Passarge, 2010).

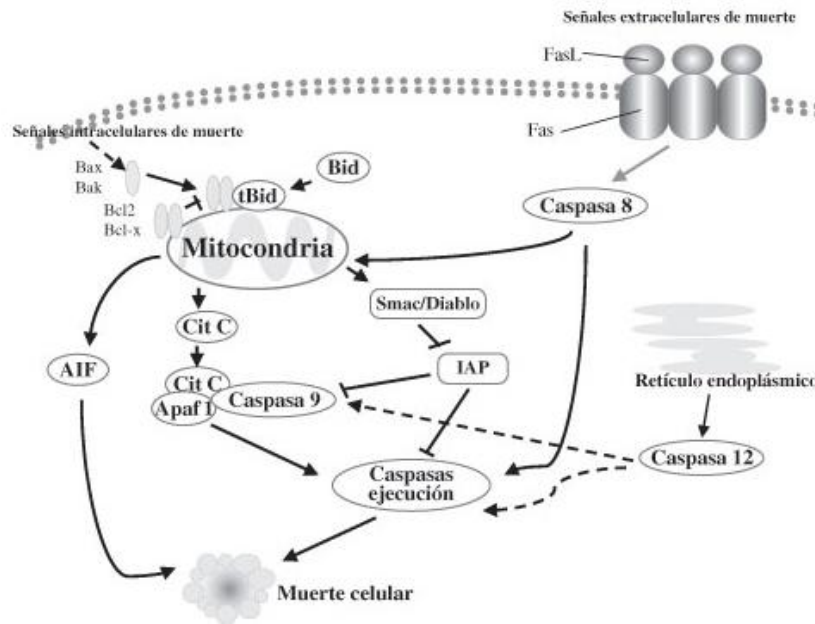


Figura 7. Vía molecular de la apoptosis. 15. (Rommy, 2012)

#### d. Ciclo celular del cáncer

El cáncer es una enfermedad donde la regulación del ciclo celular sale mal y el crecimiento normal y comportamiento de la célula se pierden. Existen diversas mutaciones que conducen al desarrollo de la enfermedad, la más frecuente es la mutación del p53. (Quillo Duarte, 2011). La pérdida de la función de p53 deja a las células sin un mecanismo para inhibir el desarrollo de tumores y, por lo tanto, frente a un daño al DNA que active un oncogen no podrían detener su ciclo proliferativo y corregir el daño o morir por apoptosis (Quezada, 2007).

Alteraciones en el proceso de interrupciones del ciclo celular permiten que células con genomas modificados evolucionen a células cancerosas, como (Quillo, 2011) (Malumbres, 2009):

- Inestabilidad cromosómica: defecto de los puntos de control, mala segregación cromosómica.
- Inestabilidad genómica: defecto en los procesos de reparación y de detección de los puntos de control

- Proliferación no programada: activación por señales mitogénicas, activación de oncogenes.

Ciclina D se ha visto incrementada en múltiples tipos de cáncer, y el riesgo de desarrollar estos males aumenta cuando existe un decremento de zinc, pues se ha demostrado que la deficiencia nutricional es un factor de riesgo importante para desarrollar los tipos de cánceres gastroesofágicos (Quezada, 2007) (Quillo, 2011).

La sola sobreexpresión de ciclina D ha mostrado ser insuficiente para dar una respuesta carcinogénica en modelos animales tratados con agentes cancerígenos como la N-nitrosometilbenzilamina. Las ciclinas A y E, por su parte, se sobre expresan en carcinomas hepatocelulares y su nivel de sobreexpresión se relaciona con la agresividad de la enfermedad (Quezada, 2007).

Ciclina B se incrementa en casos positivos a los virus del papiloma humano 16 o 18, los cuales son la principal causa de cáncer de cérvix en mujeres. Además estos HPVs de alto riesgo codifican en su genoma oncoproteínas que también juegan un rol en la carcinogénesis, como es el caso de la oncoproteína E7, que al igual que el complejo ciclina D/CDK puede bloquear la función de Rb y así promover el ciclo celular o la oncoproteína E6 que bloquea las funciones de p53 al unirse a este factor de transcripción (Quezada, 2007) (Quillo, 2011).

La CDK 1 se encuentra presente durante todo el ciclo celular de la célula cancerosa como se observa en la figura 8.

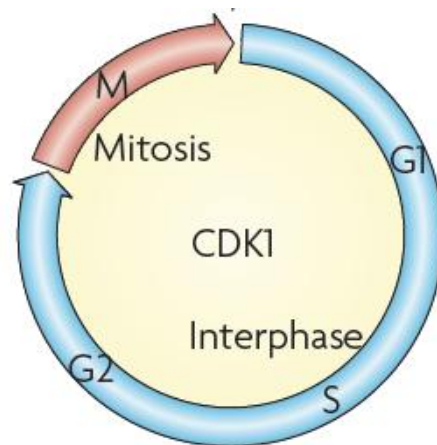


Figura 8. CDK 1 en el ciclo celular de células cancerosas. (Malumbres, 2009)



## II. CÁNCER

### a. Definición

Cáncer es un término genérico que designa un amplio grupo de enfermedades que pueden afectar a cualquier parte del organismo; también se habla de tumores malignos o neoplasias malignas. Una característica del cáncer es la multiplicación rápida de células anormales que se extienden más allá de sus límites habituales y pueden invadir partes adyacentes del cuerpo o propagarse a otros órganos por el sistema sanguíneo y por el sistema linfático, proceso conocido como metástasis (Núñez, 2005).

### b. Tipos de cáncer

Hay más de 100 diferentes tipos de cáncer. Los tipos de cáncer se pueden agrupar en categorías más amplias. Las categorías principales de cáncer son (INCEUA, 2012):

- Carcinoma: cáncer que empieza en la piel o en tejidos que revisten o cubren los órganos internos.
- Sarcoma: cáncer que empieza en hueso, en cartílago, grasa, músculo, vasos sanguíneos u otro tejido conjuntivo o de sostén.
- Leucemia: cáncer que empieza en el tejido en el que se forma la sangre, como la médula ósea, y causa que se produzcan grandes cantidades de células sanguíneas anormales y que entren en la sangre.
- Linfoma y mieloma: cánceres que empiezan en las células del sistema inmunitario.
- Cánceres del sistema nervioso central: cánceres que empiezan en los tejidos del cerebro y de la médula espinal.

### c. Origen del cáncer

El cáncer es una enfermedad multifactorial, donde la edad, el sexo, la raza y la herencia se reconocen como factores genéticos determinantes de riesgo. La dieta, los hábitos tóxicos, el estilo de vida y el medio en general, incluyendo la infección por microorganismos, son factores que actúan sobre el genoma de las células como iniciadores o promotores tumorales en la transformación celular. En realidad la herencia y el ambiente son los extremos de un espectro en cuyo centro se sitúan las causas de la mayor parte de las neoplasias encontradas en el hombre (Tomás, 1988).

El cuerpo está formado de muchos tipos de células. Estas células crecen y se dividen en una forma controlada para producir más células según sean necesarias para mantener sano el cuerpo. Cuando las células envejecen o se dañan, mueren y son reemplazadas por células nuevas (INCEUA, 2012).

Sin embargo, algunas veces este proceso ordenado se descontrola. El material genético (DNA, ácido desoxirribonucleico) de una célula puede dañarse o alterarse, lo cual produce mutaciones que afectan el crecimiento y la división normales de las células. Cuando sucede esto se advierten 3 posibilidades para la célula: pueden actuar los mecanismos de reparación del daño y la célula regresar a la normalidad, la célula puede morir o puede pasar a ser una célula iniciada en la transformación (Núñez, 2005) (Tomás, 1988).

En general el cáncer no es causado por un solo evento, sino, es el resultado de varios cambios independientes ocurridos en una célula con efectos acumulativos. La transformación de una célula normal en tumoral es un proceso multifásico, existe un primer suceso, denominado iniciación, donde un agente o un error endógeno coloca a la célula en una situación de mayor susceptibilidad o predisposición para transformarse en neoplásica. En un segundo momento se produce la conversión en célula cancerosa de una célula previamente susceptible. Estas alteraciones son el resultado de la interacción entre los factores genéticos del paciente y tres categorías de agentes externos (Núñez, 2005) (Tomás, 1988) (J. García, 2001):

- Carcinógenos físicos, como las radiaciones ultravioleta e ionizantes (provocan traslocaciones y rupturas de cromosomas).
- Carcinógenos químicos, como los asbestos, los componentes del humo de tabaco, las aflatoxinas o el arsénico (causan cambios locales en la secuencia del ADN).
- Carcinógenos biológicos, como las infecciones causadas por determinados virus, bacterias o parásitos (causan cambios locales en la secuencia del ADN).

No todos los tumores son cancerosos; puede haber tumores benignos y tumores malignos. Los tumores benignos no son cancerosos. Pueden extirparse y, en la mayoría de los casos, no vuelven a aparecer. Las células de los tumores benignos no se diseminan a otras partes del cuerpo. Los tumores malignos son cancerosos. Algunos cánceres no forman tumores. Por ejemplo, la leucemia es un cáncer de la médula ósea y de la sangre (INCEUA, 2012).

#### d. Tratamiento

Las formas de combatir las neoplasias son principalmente tres: la cirugía, la radioterapia y la quimioterapia, los resultados de estas estrategias terapéuticas dependen del comportamiento que tenga la neoplasia, aunque la experiencia ha demostrado que la combinación de estrategias ofrece los mejores resultados (Quillo, 2011).

Recientemente se han incorporado nuevas estrategias que en combinación con los tres ya mencionados pueden tener una mejor función en el tratamiento de estos padecimientos, entre ellos encontramos a la terapia biológica, la terapia fotodinámica, la hipertermia local, el trasplante de médula ósea y la terapia génica, entre otras, aunque hasta el momento esto provoque un costo mayor en el tratamiento (García, 2007).



### III. ANTINEOPLÁSICOS

La lucha contra el cáncer es uno de los campos de la investigación actual que se encuentra en continuo desarrollo en los últimos años, debido al creciente aumento de la extensión de esta enfermedad dentro de la población. Actualmente sigue aumentando el número de casos en el mundo, pero las tasas de mortalidad disminuyen. Esto es debido a que los diagnósticos son más precoces y a que los tratamientos son más eficaces (Gómez, 2010).

#### a. Definición y clasificación de los antineoplásicos

Para el tratamiento del cáncer se utilizan (o se intenta utilizar) quimioterápicos, hormonas y antihormonas, anticuerpos e inmunomoduladores, interferones y otras citocinas. Además, están en distintas fases de su desarrollo, drogas con otros efectos: inducción de diferenciación celular, modificación de la expresión de los oncogenes, interferencia con factores de crecimiento, etc (Tessler, 2004).

Quimioterapia implica toxicidad diferencial: la potencia tóxica del quimioterápico es, idealmente, mucho mayor para el parásito que para, el huésped. En el caso de la quimioterapia antineoplásica, las células tumorales juegan 'el papel del parásito y, debido a su mucho mayor similitud con las células normales del huésped, la toxicidad diferencial de los quimioterápicos antineoplásicos es pequeña. Para superar este último problema, se trata de emplear tácticas quimioterapéuticas que aprovechen al máximo las diferencias citocinéticas entre células cancerosas y normales y las características farmacocinéticas y/o farmacodinámicas de las drogas (Tessler, 2004).

La clasificación de los medicamentos usados en la terapia contra el cáncer se basa tomando en cuenta sus mecanismos de acción, su grupo químico, si son sustancias naturales como se muestra en la figura 9.

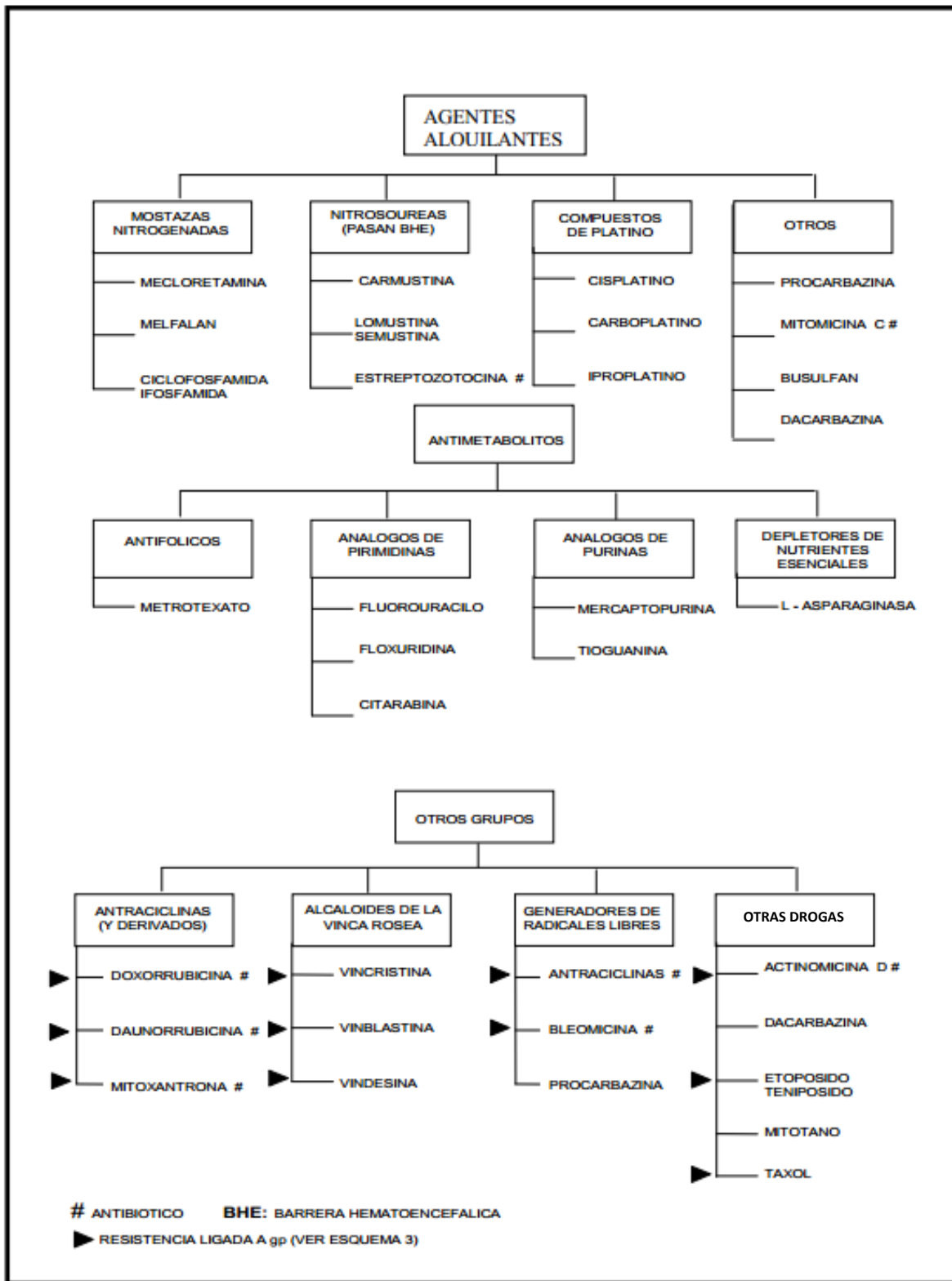


Figura 9. Clasificación de los quimioterapéuticos. (Tessler, 2004)

### b. Antineoplásicos organometálicos

Los resultados obtenidos al administrar cisplatino a pacientes con tumor testicular o de ovario metastático que eran poco tratables con los antitumorales conocidos hasta ese momento representó un gran avance en el tratamiento de estos padecimientos, este paso motivó a los diferentes grupos de investigación a emplear otros metales de transición para obtener nuevos agentes anticancerosos tomando en cuenta que estos metales podrían tener ciertas ventajas (García, 2007):

- 1) Sitios adicionales de coordinación.
- 2) Cambios en el estado de oxidación del metal.
- 3) Diferentes cinéticas de sustitución y afinidad hacia los ligantes.

La Química inorgánica medicinal puede aprovechar las propiedades únicas de los iones metálicos para el diseño de nuevos medicamentos. Esto condujo a la aplicación clínica de agentes quimioterapéuticos para tratamiento del cáncer. El uso de cisplatino es muy limitada por su toxicidad y efectos secundarios. Esto ha estimulado a emplear diferentes estrategias en el desarrollo de nuevos fármacos a base de agentes metálicos con diferentes mecanismos de acción contra el cáncer (Pieter, 2010).

#### b.1. Compuestos de platino.

Los complejos de platino son sin duda los compuestos más estudiados como agentes antitumorales, uno de los compuestos que mejores resultados ha presentado en terapia es el cisplatino (Figura 10) ( $\text{cis-}[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{Cl})_2]$ ), aprobado por la FDA en 1979 para su empleo como antitumoral, este complejo se emplea en el tratamiento de cáncer de células germinales, tumores de trofoblastos, cáncer epitelial de ovario y cáncer de hígado así como paliativo en cáncer de vejiga, cervical, nasofaríngeo, esófago y cáncer en la cabeza y la nuca, pero la mayor eficacia se ha observado en cáncer testicular (García, 2007).

Además, la continua búsqueda de mejoras en las propiedades citotóxicas de derivados de platino análogos al cisplatino ha llevado a estudiar una amplia variedad de nuevos complejos con interesantes propiedades clínicas como la “segunda generación” de

compuestos de platino diseñados a partir de la estructura del cisplatino, donde se buscaba disminuir la toxicidad e incrementar el espectro de acción, tal es el caso del carboplatino (Figura 10) que es menos tóxico que el cisplatino y el cual fue aprobado para su empleo clínico en 1998 (García, 2007) (Gómez, 2010).

El cisplatino sigue siendo utilizado como “compuesto padre” o “compuesto base” y recientemente nuevos compuestos han sido aprobados para su empleo, el oxaliplatino (Figura 10) [trans-L-diaminociclohexano (oxalato) platino (II)] en combinación con 5-fluorouracilo para tratar cáncer colorrectal, en Japón y China el nedaplatino (Figura 10) [cis-diamino-glicolato-O, O'-platino (II)] y el lobaplatino (Figura 10) respectivamente (García, 2007).

Los ensayos clínicos realizados con estos complejos de segunda generación estuvieron caracterizados por la observación de una mayor mielotoxicidad y una reducida neurotoxicidad, lo cual los hizo muy efectivos en tratamientos antineoplásicos, mejorando las propiedades del cisplatino. (Gómez, 2010)

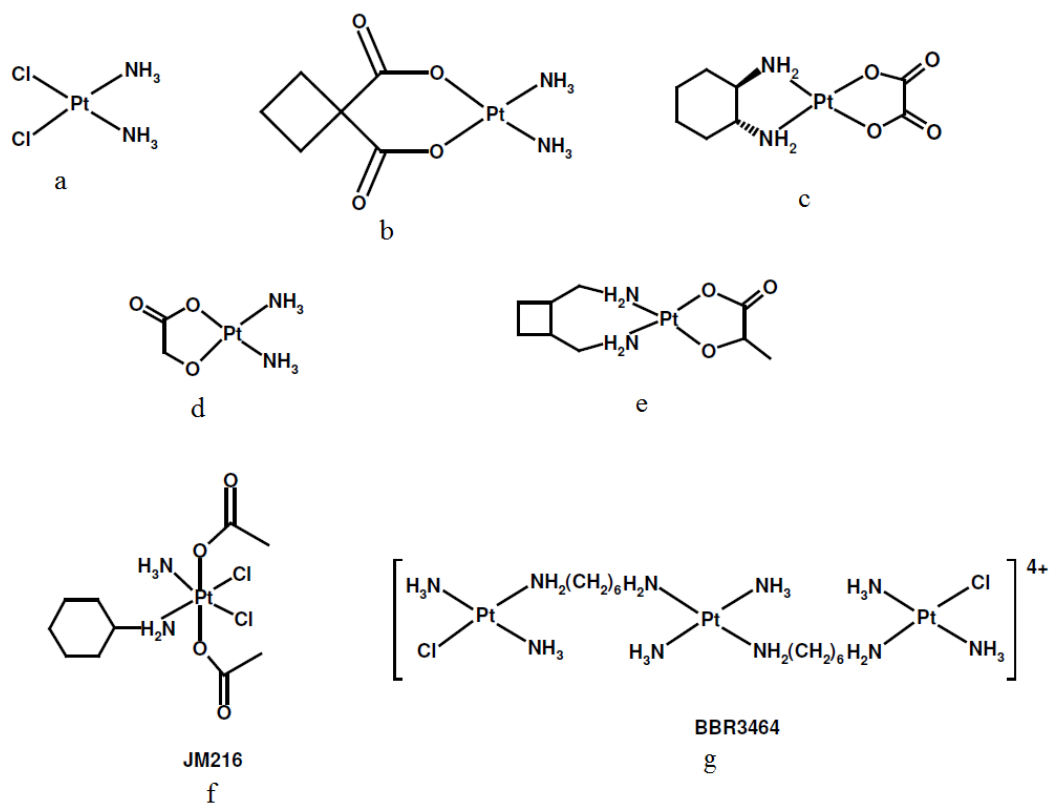


Figura 10. Estructuras de compuestos coordinados de platino (García, 2007)

a: cisplatino; b: carboplatino; c: oxaliplatino; d: nedaplatino; e: lobaplatino; f: satraplatino; g: BBR3464

Otros compuestos de platino con estado de oxidación (IV) como el satraplatino o JM-216 (Figura 10) han sido probados, sin embargo, se cree que estos son reducidos a Pt (II) por agentes intracelulares y extracelulares antes de reaccionar con el DNA. Una vía más ha producido compuestos binucleares, trinucleares y tetranucleares de este metal que de acuerdo a las pruebas realizadas se muestran como posibles candidatos para su uso como antitumorales, como el denominado BBR3464 (Figura 10), que evaluado in vitro presenta una mayor actividad tanto en líneas sensibles como resistentes al cisplatino, el incremento en la actividad es atribuido a una mayor asimilación de Pt por parte de las células respecto al cisplatino y por consiguiente un incremento en la unión a DNA (García, 2007).

Sin embargo, se ha observado que algunos compuestos del tipo trans-platino (Figura 11) constituyen alternativas muy interesantes a los compuestos del tipo cisplatino, ya que muestran una elevada actividad sobre células cancerosas resistentes. Los más estudiados han sido aquellos compuestos mono- y polinucleares que contienen ligandos con heterociclos, aminas alifáticas, iminoéteres, oximas e incluso fosfinas observando que todos ellos parecen no presentar ninguna barrera estructural que limite su posible aplicación terapéutica, ya que rompen las reglas estructura-actividad establecidas comúnmente para el diseño de metalofármacos (Gómez, 2010).

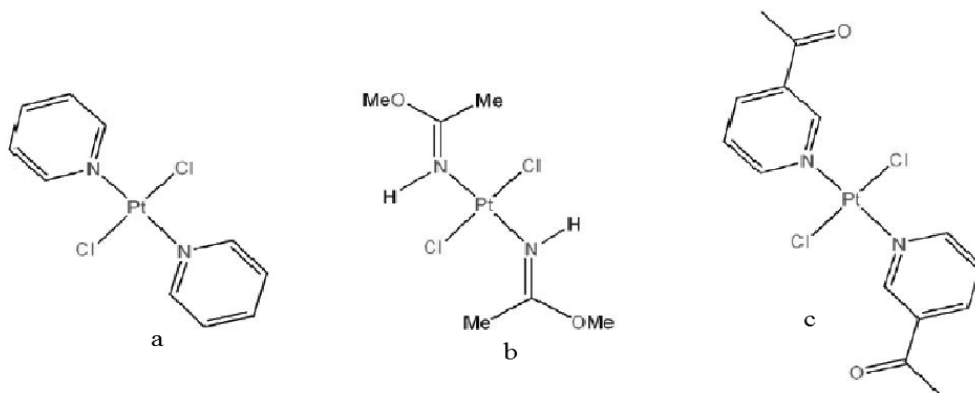


Figura 11. Compuestos del tipo trans-platino. (Gómez, 2010)

a: trans-dipiridina dicloroplatino; b: diiminoéter de platino(II), c: trans-bis(3-acetilpiridina)dicloroplatino

El DNA es el objetivo biológico de este tipo de fármacos, ya que en biopsias realizadas sobre tumores de pacientes tratados con complejos de platino, se ha observado DNA "platinado". Los compuestos de platino interactúan directamente con el DNA formando aductos por medio de un intercambio de ligantes, en el cual se pierden los átomos de cloro de la esfera de coordinación del platino, en un primer paso la sustitución es por una molécula de agua, para después ser sustituidos por átomos de nitrógeno de las bases púricas y pirimidínicas (Figura 12), siendo el nitrógeno 7 de la guanina ( $GN^7$ ) el principal blanco, siendo esta base la más favorable termodinámica y cinéticamente para la reacción con platino y otros electrófilos además de que la posición  $GN^7$  es la más nucleofílica del DNA (García, 2007).

La interacción que se observa entre el platino y la guanina puede ser:

1. Monofuncional, esto es, que el platino se une a solo una base del DNA.
2. Se puede presentar una unión intracatenaria que es el más común debido a la disposición espacial después de que se da un proceso monofuncional
3. Una interacción intercatenaria en la que el platino está coordinado a dos nitrógenos de bases pertenecientes a dos distintas cadenas. (Figura 13)

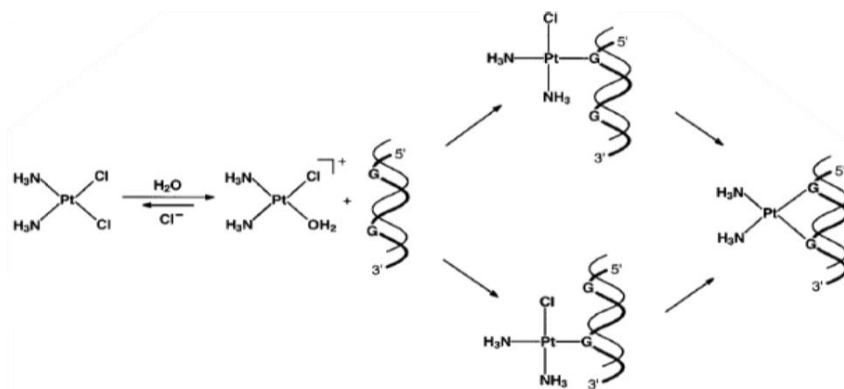


Figura 12. Esquema de la reacción de hidrólisis del cisplatino y su interacción con  $N^7$  de guanina. (García, 2007)

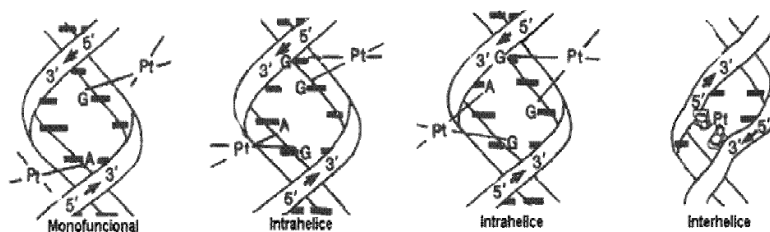


Figura 13. Aductos formados por los compuestos de platino con el DNA. (García, 2007)

## b.2. Compuestos de rutenio.

El rutenio, osmio, rodio, iridio, paladio y platino son elementos de la segunda y tercera serie transicional de las familias 8, 9 y 10 conocidos como “metales del grupo del platino”. La química de estos elementos presenta algunas características comunes, sin embargo, existen amplias variaciones que dependen de las diferentes estabilidades de los estados de oxidación, estereoquímicas (García, 2007).

Debido a las estructuras octaédricas de los complejos de rutenio(II) y rutenio(III) en comparación con la geometría plana de los compuestos de Pt(II), se puede pensar que existe una diferencia en el mecanismo de acción anticanceroso de los mismos. Sin embargo, en el exterior celular y teniendo en cuenta que el rutenio se parece mucho al hierro en su acción biológica, los complejos de rutenio son capaces de unirse a proteínas como la albúmina y la transferrina. Esa propiedad de interactuar con estas proteínas, la tienen también los complejos de platino(II). Así pues, la entrada de los iones rutenio(III) dentro de la célula mediante endocitosis propiciada por la transferrina, podría ser el mecanismo de permeación en la célula de los iones rutenio(III) (Gómez, 2010).

Los compuestos de tipo  $\text{cis-}[\text{RuIII}(\text{Cl})_2(\text{NH}_3)_4]\text{Cl}_2$  y  $(\text{HIm})\text{trans-}[\text{RuIII}(\text{Im})_2\text{Cl}_4]$  (Figura 14) que presentan una relación directamente proporcional entre la magnitud de su interacción con DNA y la citotoxicidad (García, 2007).

La solubilidad de estos compuestos puede ser aumentada al incrementar el número de cloros, como los compuestos  $\text{trans-}(\text{LH}) [\text{RuCl}_4\text{L}_2]$ , los cuales muestran actividad frente a leucemia linfocítica P388, carcinosarcoma de Waker, y particularmente efectivos frente a tumores colorrectales, en modelos tumorales animales (García, 2007).

La solubilidad también puede ser incrementada empleando dialquil sulfóxidos (R<sub>2</sub>SO) como en  $\text{trans-}[\text{RuCl}_2(\text{Me}_2\text{SO})_4]$ ,  $[\text{RuCl}_3(\text{Me}_2\text{SO})_2\text{B}]$  o el compuesto  $\text{Na-trans-}[\text{RuCl}_4(\text{Me}_2\text{SO})(\text{Im})]$  (Figura 14) que también es conocido como NAMI. El NAMI puede ser utilizado para minimizar el crecimiento de micro metástasis indetectables después de un

tratamiento quirúrgico o de radioterapia. Los estudios realizados con este compuesto muestran que el mecanismo de acción no involucra la unión con el ADN, su actividad parece ser independiente de la concentración, ya que sólo una pequeña cantidad del compuesto alcanza el tumor, además de que puede incrementar la resistencia a la formación de metástasis (García, 2007).

Por otro lado, NAMI-A (ImH)-trans-[RuCl<sub>4</sub>(Me<sub>2</sub>SO)(Im)] (Figura 14), es un compuesto diseñado para tener actividad farmacológica superior a NAMI, este compuesto es más estable y es más fácil de sintetizar y presenta una menor toxicidad que cisplatino (García, 2007).

Algunos compuestos de nitrosilo (Figura 14) son activos liberando óxido nítrico tras una reducción *in vivo*. Algunos investigadores han revisado las ventajas fotodinámicas de la liberación de NO de los compuestos de rutenio, la única aproximación fotodinámica es el emplear la absorción Mössbauer de rayos  $\gamma$  de complejos de rutenio unidos a ADN para inducir a los electrones Auger a provocar daño a los ácidos nucleicos (García, 2007).

También han sido evaluados compuestos de dirutenio, compuestos de valencia mixta con carboxilatos del tipo [Ru<sub>2</sub>( $\mu$ -O<sub>2</sub>CR)<sub>4</sub>]Cl (Figura 14) que tienen actividad moderada contra la línea celular P388 (García, 2007).

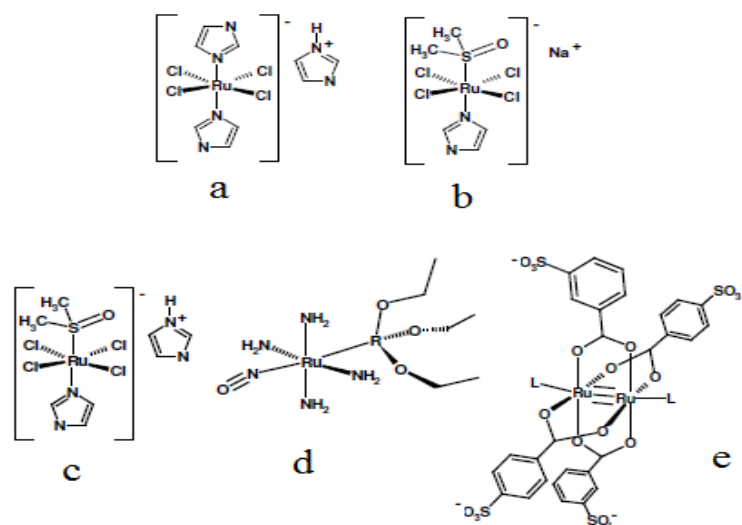


Figura 14. Estructura de los compuestos de rutenio. (García, 2007)

a: cis-[RuIII(Cl)<sub>2</sub>(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>]Cl<sub>2</sub> y (HIm)trans-[RuIII(Im)<sub>2</sub>(Cl)<sub>4</sub>]; b: Na-trans-[RuCl<sub>4</sub>(Me<sub>2</sub>SO)(Im)]; c: NAMI-A (ImH)-trans-[RuCl<sub>4</sub>(Me<sub>2</sub>SO)(Im)]; d: nitrosilo; e: [Ru<sub>2</sub>( $\mu$ -O<sub>2</sub>CR)<sub>4</sub>]Cl



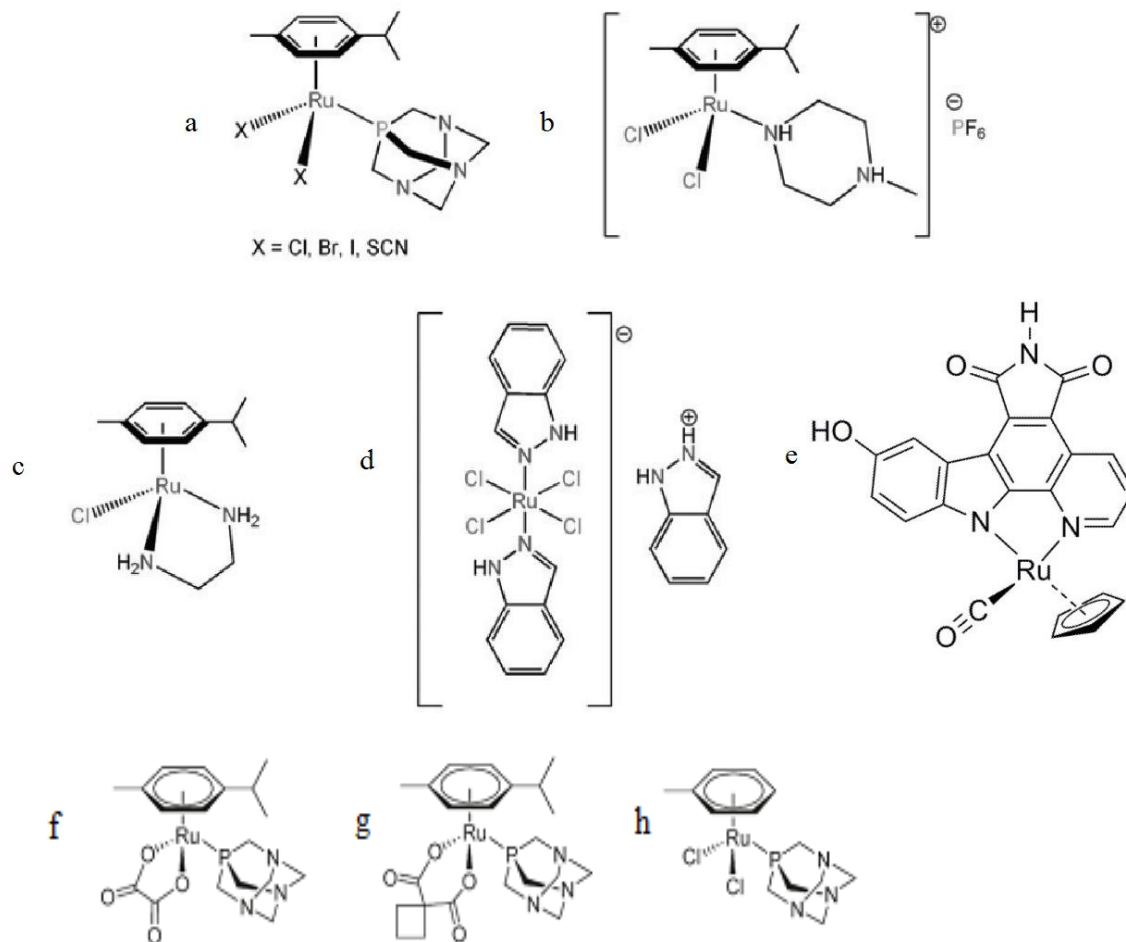


Figura 15. Complejos de rutenio (II/III). (Gómez, 2010) (Manuscript,2008) (Gasser, 2011)

a: RAPTA-C, b: complejo areno de rutenio iónico, c: complejo areno neutro de rutenio, d: KP1019; e: DW1; f: oxalo-RAPTA-C; g: carbo-RAPTA-C; h:RAPTA-T

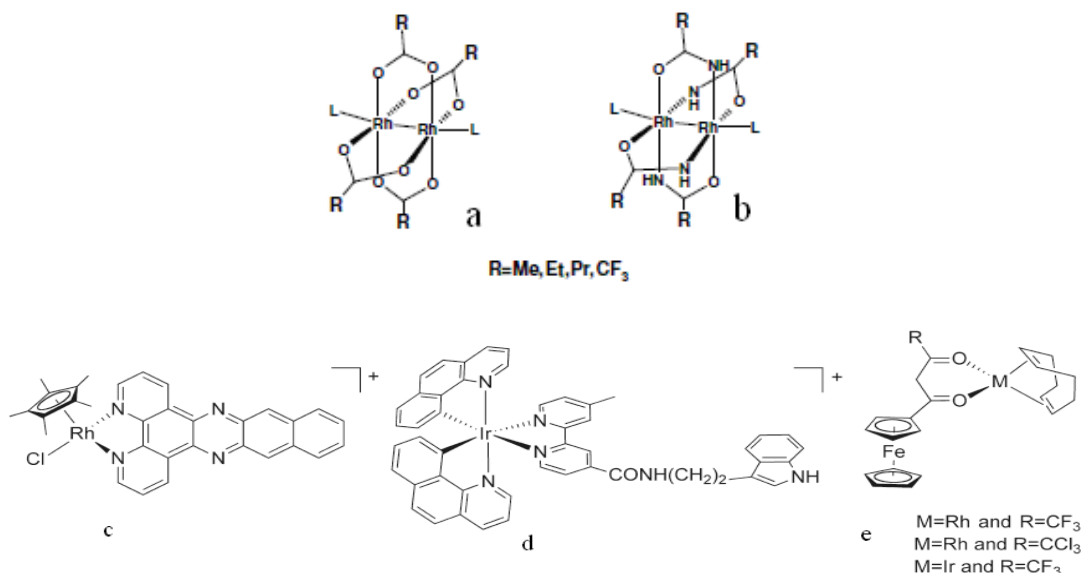
Los derivados Ru-RAPTA (Ru (II) etilendiamina areno compuestos) fueron diseñados originalmente para mejorar la solubilidad acuosa de los compuestos de Rodio. En cuanto a los derivados de RAPTA que contiene dos cloruros también se diseñaron para ser susceptible a la hidrólisis y se previó primero que el ADN fuera su blanco. Recientemente se han sintetizado derivados de RAPTA carboxilato (Oxalo-RAPTA-C y carbo-RAPTA-C, Figura 15); fueron inspirados evidentemente por las estructuras de carboplatino y oxaliplatino. En analogía a los compuestos de Pt, los ligandos carboxilato se hidrolizan más lentamente (Gasser, 2011).

### b.3. Compuestos de iridio y rodio.

Los compuestos de Iridio (figura 16) en los estudios preclínicos han mostrado una alta actividad citotóxica en cultivos de células HELA. Mediante estudios de espectros de absorción atómica se ha observado que los efectos antiproliferativos están muy asociados a los ligandos formados con polipiridil (Gasser, 2011).

Respecto a los complejos de rodio, los estudios in vivo de compuestos de tipo  $[\text{Rh}_2(\mu\text{-O}_2\text{CR})_4]$  (Figura 16), aunque el mecanismo de acción de estos compuestos no ha sido dilucidado, se sabe que se unen al ADN e inhiben su replicación y la síntesis de proteínas de forma semejante a cómo actúa el cisplatino (García, 2007).

Es importante destacar el hecho de que la actividad antitumoral de la serie  $[\text{Rh}_2(\mu\text{-O}_2\text{CR})_4]$ , aumenta conforme aumenta la lipofilicidad del grupo R. Siguiendo este precepto, se evaluaron los complejos  $[\text{Rh}_2(\mu\text{-O}_2\text{CCF}_3)_4]$  y  $[\text{Rh}_2(\mu\text{-HNCOCF}_3)_4]$  (Figura 16) (García, 2007).



**Figura 16. Estructura de los compuestos de iridio rodio.** (García, 2007) (Gasser,2011)

a:  $[\text{Rh}_2(\mu\text{-O}_2\text{CR})_4]$ ; b:  $[\text{Rh}_2(\mu\text{-HNCOCF}_3)_4]$ ; c: complejo de Rh (III); d: complejo de Ir (III); e: Complejos de Ir (I) y Rh(I)

### b.3. Compuestos de renio.

Debido a su proximidad en la tabla periódica respecto a los metales del grupo del platino se sintetizaron y evaluaron una gran cantidad de compuestos de coordinación de renio, y son prometedores compuestos antiproliferativos (García, 2007).

Los compuestos dinucleares en los que hay un enlace directo metal-metal se consideran como una clase promisoría de compuestos inorgánicos debido a la baja toxicidad relativa en comparación con otros metales pesados. Los compuestos  $[\text{Re}(\mu\text{-O}_2\text{CC}_2\text{H}_5)_2\text{Br}_4(\text{H}_2\text{O})_2]$  (Figura 17) y el compuesto soluble en agua  $[\text{Re}_2(\mu\text{-O}_2\text{CC}_2\text{H}_5)_4]\text{SO}_4$  (Figura 17) ambos con enlace cuádruple Re-Re presentan una actividad antitumoral considerable frente a melanoma B16 y sarcoma 180 respectivamente. Es posible que estos compuestos inhiban la replicación de DNA y la síntesis de proteínas de una manera similar a como la hacen los compuestos dinucleares de rodio (García, 2007).

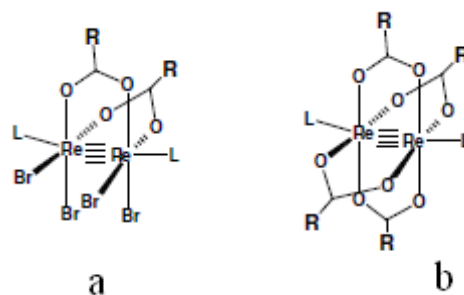


Figura 17. Estructura de los compuestos de renio. (García, 2007)

a:  $[\text{Re}(\mu\text{-O}_2\text{CC}_2\text{H}_5)_2\text{Br}_4(\text{H}_2\text{O})_2]$ , b:  $[\text{Re}(\mu\text{-O}_2\text{CC}_2\text{H}_5)_2\text{Br}_4(\text{H}_2\text{O})_2]$

En la figura 18 se presenta una lista de compuestos tóxicos de Re entre los cuales el a, b y h son los más citotóxicos. El compuesto f y d de la figura 18, son muy afines a los nucleótidos del DNA. Mientras que los compuestos  $[\text{Re}_2(\mu\text{-OH})_3(\text{CO})_6]$ ,  $[\text{Re}_2(\mu\text{-OH})-(\mu\text{-OPh})_2(\text{CO})_6]$ ,  $[\text{Re}_2(\mu\text{-OMe})_2(\mu\text{-dppf})_2(\text{CO})_6]$ , y  $[\text{Re}_2-(\mu\text{-OPh})_2(\mu\text{-dppf})_2(\text{CO})_6]$  (dppf=1,10-bis(diphenylphosphino)-ferroceno) son afines a las enzimas que intervienen en el metabolismo de los nucleótidos (Gasser, 2011)

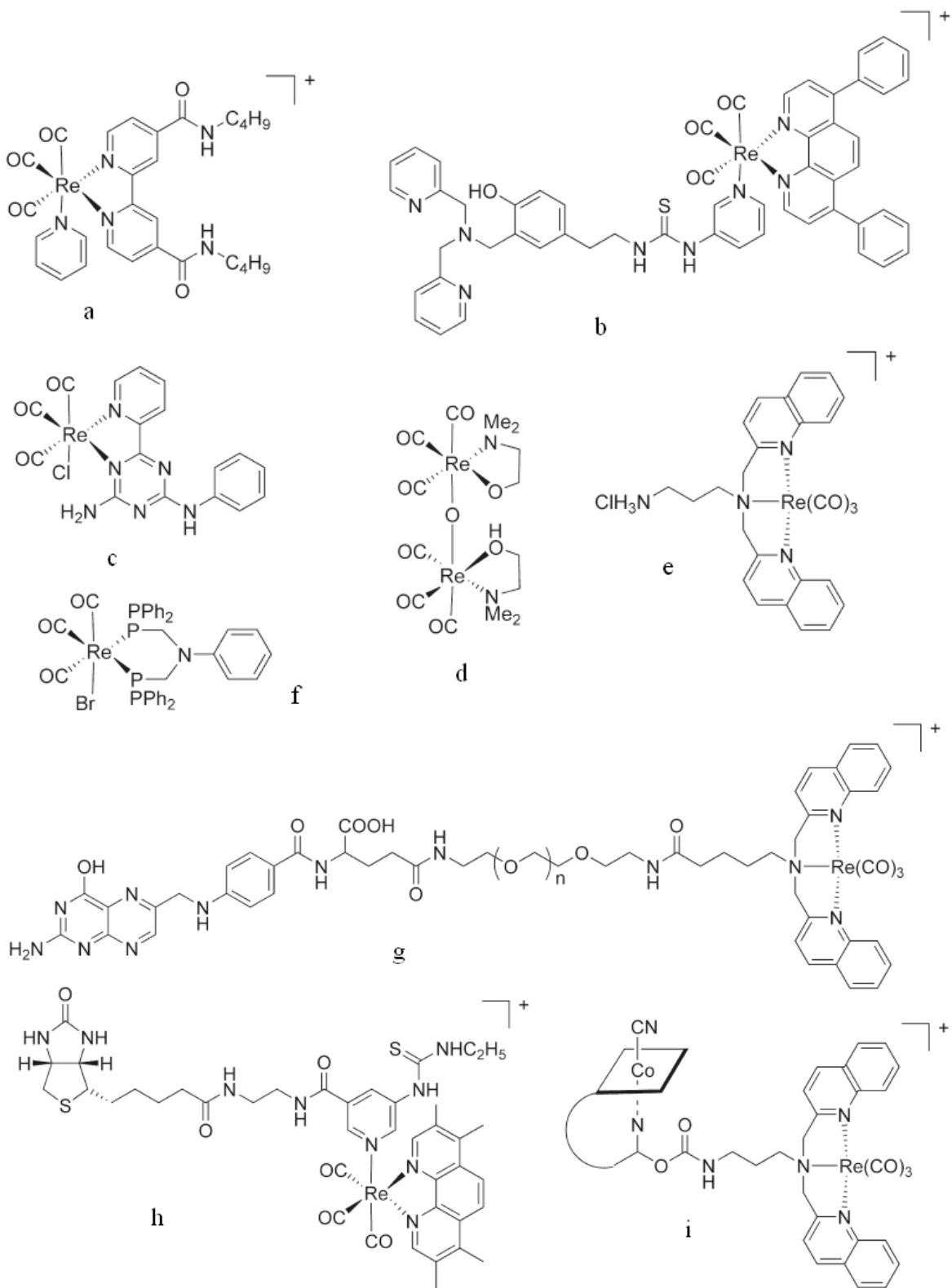


Figura 18. Compuestos de Renio con alto potencial antiproliferativo. (Gasser, 2011)

#### b.4. Compuestos de oro.

Los compuestos de oro son utilizados desde hace mucho tiempo para combatir la artritis, infecciones, pero desde hace algunos años se han probado como potenciales agentes antitumorales aunque muy pocos de ellos han mostrado esta actividad, además pertenecen a un grupo de compuestos metalo-activos de nominado NHC (N-Heterocyclic carbenes) tiene buenas propiedades catalíticas, ya que actúa afectando el metabolismo de las mitocondrias de las células. Afectando a la treonina reductasa y glutamato reductasa (García, 2007) (Gasser, 2011).

Los compuestos que mostraban actividad eran aquellos que tenían fosfinas en su esfera de coordinación como el auranofin [AuI (2,3,4,6-tetra-O-acetil--1-D-glucopianosato-S)(trifenilfosfina)] (Figura 19) que incrementa el tiempo de sobrevida de ratones inoculados con leucemia P388, inhibe la DNA polimerasa y es citotóxico en células que tienen una alteración mitocondrial (García, 2007).

Otro ejemplo de un compuesto de coordinación de oro con fosfinas es el [Au(PPh<sub>3</sub>)Cl] (Figura 19) el cual inhibe la formación de colonias tumorales in vitro, reacciona con DNA e inhibe la fosforilación oxidativa y la producción de ATP (García, 2007).

Por último, los compuestos de tipo [AuI (PR<sub>2</sub>)<sub>2</sub>]Cl tienen una actividad antitumoral reproducible y significativa en varios modelos tumorales murinos in vivo. El compuesto [AuI(dppe)<sub>2</sub>]Cl (Figura 19) inhibe la formación de colonias tumorales in vitro, induce la formación de enlaces cruzados ADN-proteína y tiene efectos antimitocondriales en células de leucemia P388. Si se sustituyen los fenilos en 18 por piridinas se obtiene el compuesto (Figura 12, 20) que muestra prometedoras propiedades antitumorales in vitro e in vivo debido a su lipofilidad. La actividad antitumoral de estos compuestos aún no es muy clara, pero se sabe que los compuestos de AuI con fosfinas son citotóxicos y muchos tiene aparente actividad antimitocondrial, lo cual los convierte en candidatos potenciales para realizar pruebas más específicas (García, 2007).

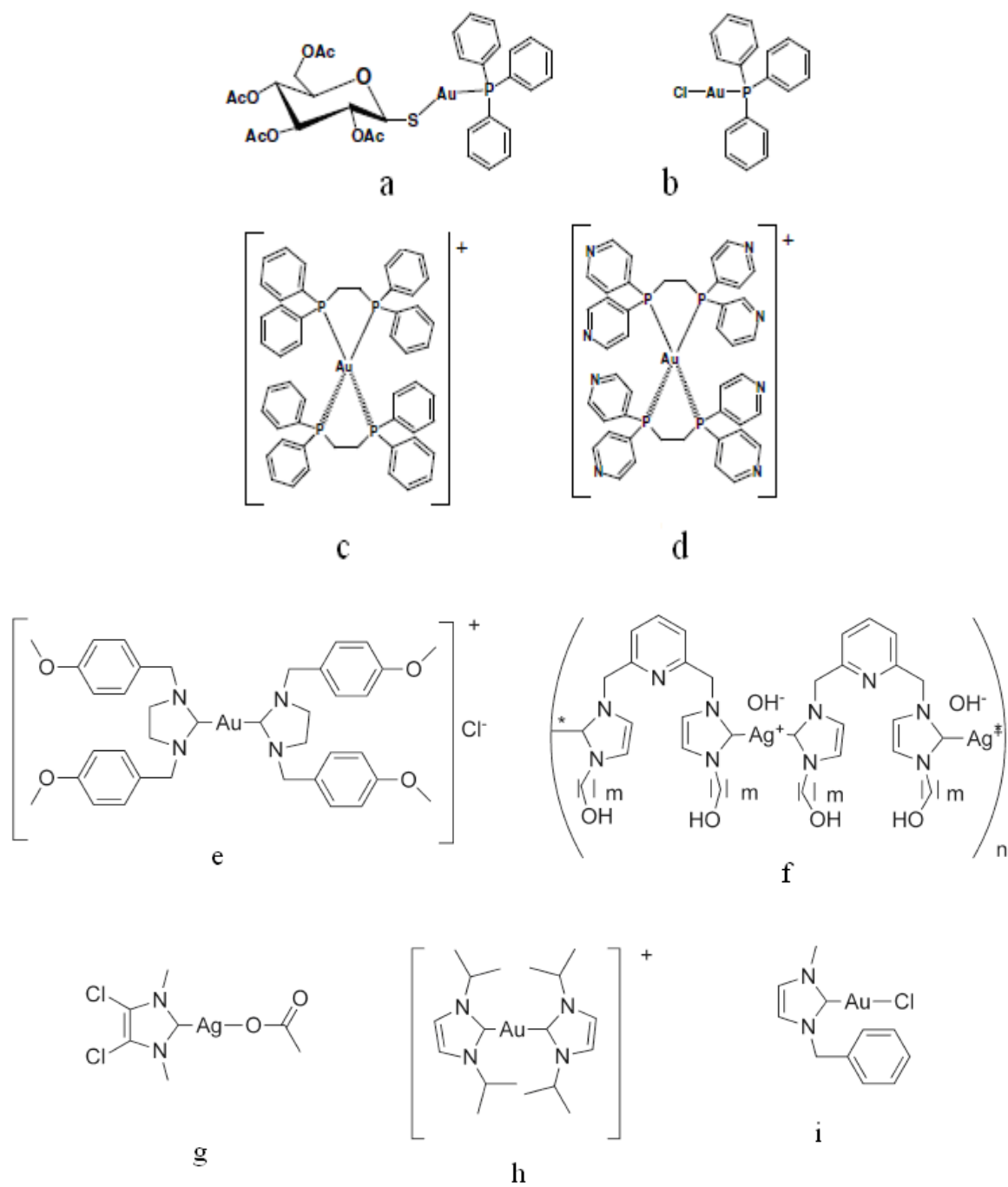
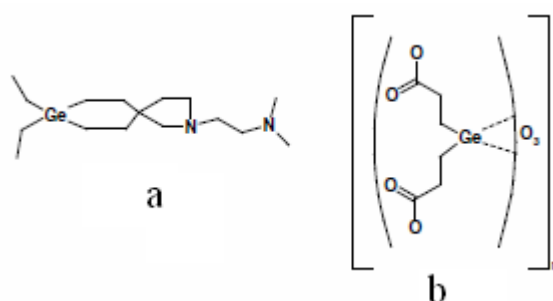


Figura 19 . Estructura de los compuestos de oro. (García, 2007) (Gasser, 2011)

### b.5. Compuestos con metales representativos.

Los compuestos de germanio fueron los primeros compuestos con metales representativos del grupo 14 en los que se identificaron propiedades antiproliferativas, son dos los compuestos de germanio con propiedades antitumorales, el 8,8-dietil-2-[3-(Ndimetilamino)propil]-2azo-8-germaspiro [4,5] decano (spirogermanio) (Figura 20) y el compuesto polimérico trióxido de bis [(carboxietil) germanio] (Figura 20). Es interesante el hecho de que la actividad anticancerígena de los compuestos de germanio no está relacionada con la citotoxicidad directamente sino con la potenciación del sistema inmune por medio de un hospedero, la activación de interferones parece ser un factor importante de su acción (García, 2007).



**Figura 20. Estructura de los compuestos de germanio.** (García, 2007)

a: 8,8-dietil-2-[3-Ndimetilamino)propil]-2azo-8-germaspiro [4,5] decano (spirogermanio); b: bis [(carboxietil) germanio]

Dentro de los metales de los grupos principales han sido utilizado muchísimos compuestos para tratar distintas enfermedades como la sífilis (tratada por la arsfenamina) o la leishmaniasis (tratada por compuestos de antimonio). Sin embargo, los metales de los grupos principales más efectivos en tratamientos contra el cáncer han sido el galio y el estaño (Gómez, 2010).

Los complejos de Ga(III) son unos candidatos muy prometedores para terapias contra el cáncer debido a la analogía que presenta el ión Ga(III) con el ión Fe(III), tanto en electronegatividad, afinidad electrónica, radio iónico, geometría de coordinación y afinidad por distintas bases de Lewis, lo que sugiere que el ión Ga(III) sigue los mismos pasos bioquímicos que los propuestos para el metabolismo del hierro dentro del organismo (Gómez, 2010).

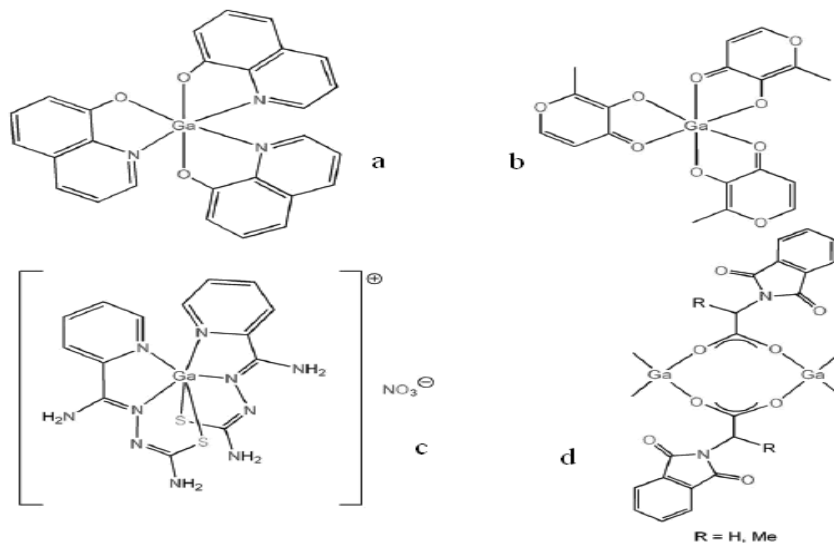


Figura 21. Compuestos de Galio. (Gómez, 2010)

a: KP46, b: maltolato de galio(III), c: complejo tiosemicarbazona, d: complejo dinuclear carboxilato de galio(III).

El estaño es otro de los elementos representativos empleados en la síntesis de compuestos con actividad antitumoral. Las potenciales propiedades terapéuticas de los complejos de estaño se establecieron ya en 1929, si bien no fue hasta la década de 1980 cuando se empezaron a estudiar en detalle las propiedades antiproliferativas de estos compuestos (Gomez, 2010).

Como para muchos otros complejos metálicos el debate siempre se ha suscitado sobre el mecanismo de acción de estos compuestos en los ensayos *in vitro* e *in vivo* realizados con los mismos, ya que hay que tener en cuenta la intrínseca toxicidad que presenta el ión Sn (IV). Se ha observado que la actividad que presentan los compuestos de estaño (IV) en los tratamientos contra el cáncer es debida a su capacidad para inducir apoptosis en las células



cancerosas. Pero además, se ha observado que en los complejos estudiados el fragmento organo estaño(IV) se enlaza a los grupos fosfatos del ADN, al contrario de lo que ocurre con los complejos de platino que se unían al N7 de las guaninas (García, 2007).

Se evaluó una serie de compuestos del tipo  $X_2R_2Sn$  y  $X_2R_2L_2Sn$  como posibles análogos del cisplatino, sin embargo presentaron poca actividad (Figura 22). Este tipo de compuestos muestran un incremento en su toxicidad en el orden  $R_3Sn > R_2Sn > RSn$ , así mismo se observa una mayor toxicidad al incrementar la longitud de la cadena. En un intento por aumentar la solubilidad de estos compuestos se empleó salicilato o derivados de éste en la serie (sal)  $2R_2Sn-O-SnR_2(sal)_2$  (Figura 22), siendo el más activo el derivado con 5-metoxisalicilato (Gomez, 2010).

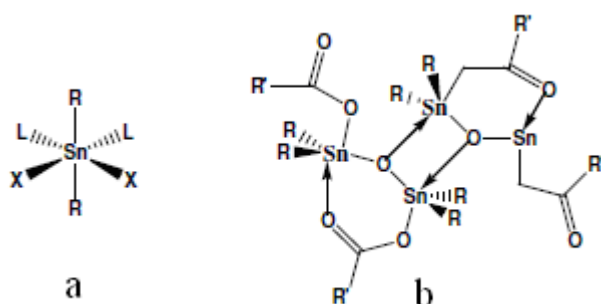


Figura 22. Estructura de los compuestos de estaño. (García, 2007)

a:  $X_2R_2L_2Sn$ , b:  $2R_2Sn-O-SnR_2(sal)_2$

También se sintetizan compuestos con centro de Osmio, que en los ensayos preclínicos se observó que son más tóxicos que los compuestos con centro de renio, a pesar de esto se tienen como posibles compuestos anticancerígenos. Sus propiedades cinéticas y termodinámicas no son tan satisfactorias como la de los compuestos de renio (Gasser, 2011).

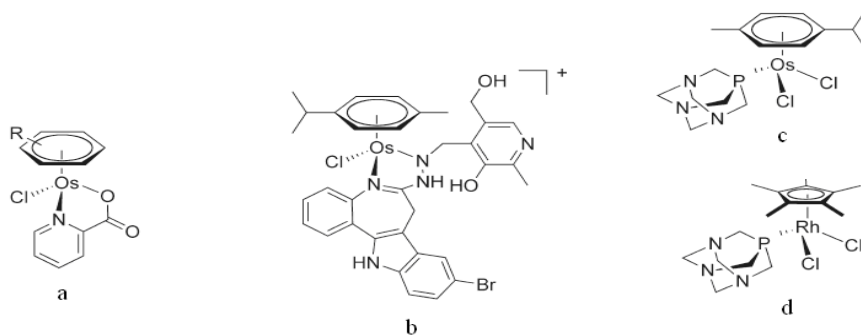


Figura 23. Compuestos de Os. (Gasser, 2011)

a: Picolinate Os, b: Palullone Os, c: Os/Rh RAPTA-C ( análogos)

### b.6. Compuestos de titanio

Desde los trabajos pioneros de Köpf y Köpf-Maier quienes descubrieron las posibilidades como agentes antitumorales de compuestos organometálicos como los complejos metaloceno dicloruro,[41] y tras los ensayos clínicos de fase I llevados a cabo para el  $Cp_2TiCl_2$  a partir de 1993 ( $Cp = \eta^5-C_5H_5$ ), la bioquímica de complejos titanoceno ha sido explorada muy extensivamente. Cuando se usan derivados titanoceno en tratamientos quimioterapéuticos siempre se encuentra la limitación en su alta neurotoxicidad (Gómez, 2010) (Gasser,2011).

Experimentos biológicos basados en  $Cp_2TiCl_2$  llegaron a la conclusión de que el titanio del compuesto se acumula en el ADN de las células tumorales e inhibe la réplica del mismo. Estudios publicados por Sadler han llevado a la postulación de un mecanismo probable de transporte de  $Ti(IV)$  a los núcleos celulares asistido por la transferrina (Figura 24). Además, existen otros estudios muy interesantes que muestran posibles interacciones de complejos titanoceno con proteínas como la albúmina, así como con enzimas implicadas en los mecanismos de muerte celular (Gasser,2011).

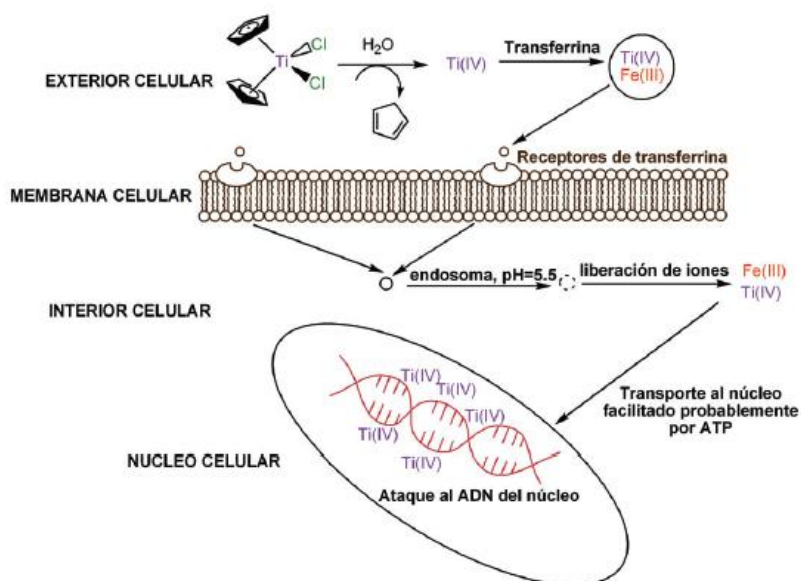


Figura 24. Mecanismo de acción de los compuestos de titanio. (Gómez, 2010)

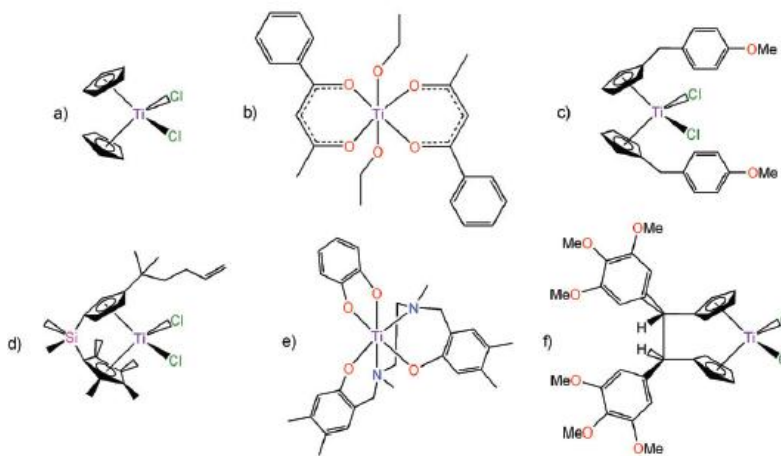


Figura 25. Compuestos de mayor uso en tratamientos anticancerígenos. (Gómez, 2010) (Gasser, 2011)

a: titanoceno, b: budotitanio; c: titanoceno ; d: complejo ansa-titanoceno con sustituyentes alquenoilo, e: derivado alcoxido de titanio de nueva generación, f: derivado ansatitanoceno con puente etileno sustituido con grupos arilo.

### b.7. Compuestos de hierro

Estudios preclínicos han demostrado que los complejos organometálicos de hierro poseen una buena actividad antitumoral. La reacción  $\text{FcCOCl}$  ( $\text{Fc} = (\text{C}_5\text{H}_5)\text{Fe}(\text{C}_5\text{H}_4)$ ) con bencimidazol, imidazol o 4-Cl-anilina en una relación de complejos de 01:01 rendimientos del ferroceno, ferrocenoilbenzimidazole particular, ferrocenoilimidazole y ferrocenoil-4-Cl-anilina. Se ha analizado la citotoxicidad de los complejos en la línea celular HeLa (Ramos, 2010).

El ferroceno por sí mismo no es un compuesto tóxico. Puede ser inyectado, inhalado, o toma por vía oral sin causar problemas de salud graves, como la mayoría de los xenobióticos, se degrada en el hígado por los citocromos (Gasser, 2011).

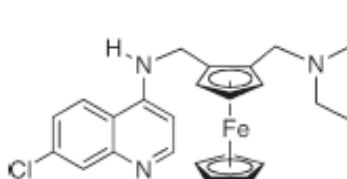


Figura 26. Estructura del ferrocene. (Ramos, 2010)

### b.8. Compuestos de cobre.

En la literatura se menciona la capacidad del  $\text{CuSO}_4$  como inhibidor del crecimiento tumoral en varios modelos experimentales de carcinoma como el tumor de Ehrlich, sin embargo, al no provocar experimentalmente un incremento en el índice de supervivencia suficiente para cumplir con los protocolos de evaluación internacionales se abandonó su estudio (García, 2007)

En el caso de los compuestos  $[\text{Cu}(\text{dimetilglioxima})_2]$  (Figura 27) y el  $[\text{Cu}(\text{3-etoxi-2-oxobutiraldehido bis(tiosemicarbazona)})]$  ( $\text{Cu(II)KTS}$ ) (Figura 27), el ligante por si mismo presenta actividad antitumoral, siendo la función del ion  $\text{Cu}^{2+}$  la de potenciar esta actividad.

El complejo de cobre con oxima mostró actividad considerable *in vitro* frente a tumores ascíticos de Ehrlich y a S180, sin embargo, las pruebas *in vivo* en modelos murinos produjeron resultados desalentadores. (García, 2007).

El caso del complejo Cu(II)KTS es distinto, en diversos trabajos publicados entre 1965 y 1967 se presentan los resultados de estudios *in vitro* e *in vivo* que ponen a este compuesto como un candidato potencial para continuar su estudio en la fase clínica. Un año después, en 1968, se propone que este compuesto inhibe la biosíntesis de ADN por la disminución en la formación de nucleótidos de pirimidina y se trabaja con nuevos ligantes parecidos al KTS (García, 2007).

En la década de 1980 otro compuesto de cobre llama la atención de muchos investigadores, el  $[\text{Cu}(1,10\text{-fenantrolina})_2]^{2+}$  ( $[\text{Cu}(\text{o-fen})_2]^+$ ) (Figura 27), el cual no es evaluado como antitumoral, sin embargo presenta características muy interesantes desde el punto de vista bioquímico. Ha sido demostrado que este compuesto provoca la ruptura de ácidos nucleicos (actividad nucleasa), produciendo un patrón específico de fragmentos que es diferente a otros compuestos que tienen la misma función (García, 2007).

Para que se lleve a cabo la ruptura del ADN es necesaria la presencia de  $\text{H}_2\text{O}_2$  ya que una vez que se ha llevado a cabo la formación de un complejo no covalente entre  $[\text{Cu}(\text{o-fen})_2]^+$  y el ADN, el  $\text{H}_2\text{O}_2$  a través de una reacción de óxido-reducción que involucra a un electrón oxida al complejo cúprico para producir el oxo complejo de cobre, que es directamente responsable del daño oxidativo que se observa, este proceso también ayuda a explicar la especificidad de ruptura del daño observado (García, 2007).

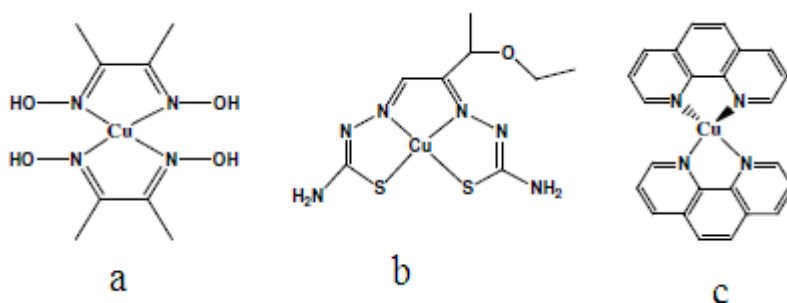


Figura 27. Estructuras de los compuestos de cobre. (García, 2007)

a:  $[\text{Cu}(\text{dimetilglioxima})_2]$ ; b: bis(tiosemicarbazona)  $[\text{Cu}(\text{II})\text{KTS}]$ ; c:  $[\text{Cu}(1,10\text{-fenantrolina})_2]^{2+}$  ( $[\text{Cu}(\text{o-fen})_2]^+$ )

El mecanismo propuesto para la interacción se proponen dos alternativas posibles, el primer caso es la formación del complejo cuproso en la disolución, el cual interacciona de manera no covalente con el surco menor del DNA, en donde posteriormente es oxidado por el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. En el segundo caso, el complejo cúprico se une de forma no covalente al surco menor y posteriormente es reducido en la superficie del DNA antes de reaccionar con el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (García, 2007).

Estudios mecanísticos sugieren que el complejo cuproso no es un eficiente generador de radicales hidroxilo cuando interacciona con peróxido de hidrógeno, por lo cual el oxo complejo de cobre es el oxidante que ataca en primera instancia a la desoxirribosa (García, 2007).

La ruptura de DNA también se puede presentar cuando hay anión superóxido en el medio, este anión se produce de manera natural en diversos procesos celulares, y cuando en este medio se encuentra el [Cu(o-fen)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> se pueden llevar a cabo las siguientes reacciones: Donde el anión superóxido reduce al complejo cúprico para producir el complejo cuproso y oxígeno, mientras al mismo tiempo una reacción de dismutación de anión superóxido produce H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y oxígeno, los dos reactivos necesarios para la ruptura de la cadena de DNA ya mencionada (García, 2007).

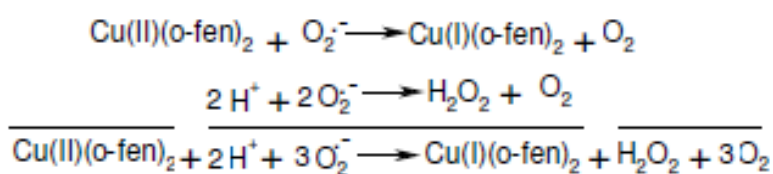


Figura 28. Reacción del compuesto 29 con peróxido para su activación. (García, 2007)

Las casiopeinas con formula general [Cu (N-N)(N-O)]NO<sub>3</sub> o [Cu (N-N)(O-O)]NO<sub>3</sub>. En su esfera de coordinación presenta un sustituyente aromático dimina (N-N), con una parte inorgánica. El NO<sub>3</sub> representa el nitrato de la molécula, y el Cu<sup>2+</sup> el centro metálico. Fueron patentados en 1992 por la UNAM como un tratamiento alternativo al cáncer, tomando de base la estructura del cis-platino. Por lo que el centro de cobre proporciona ciertas ventajas:

es más económico que el cis-platino, presenta menor toxicidad, ya que este elemento es esencial en los seres vivos y puede ser eliminado por medio de procesos homeostáticos, en comparación con los complejos de platino (Guevara, 2011).

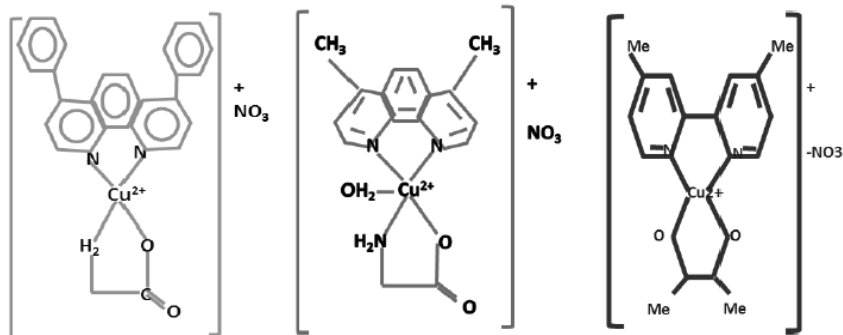


Figura 29. Estructura de las casiopeinas Igly, Hgly, III-I-a; respectivamente. (Guevara, 2011)

Se propone que los compuestos mixtos de cobre (casiopeinas) se intercalan en el DNA, interactuando preferentemente con la adenina, mecanismo de acción que se lleva a cabo mediante el apilamiento de los sustituyentes bipyridina o fenantrolina del complejo mixto con el anillo de la base. Otro mecanismo de acción sugerido está relacionado con la formación de ROS, después de que el átomo de Cu (II) se convierte en Cu (I) causando daño oxidante al DNA, lípidos, proteínas y carbohidratos (Guevara, 2011).

#### IV. ENSAYO DE MICRONÚCLEOS (MN)

Los micronúcleos (MN) son masas de cromatina esféricas que aparecen en el citoplasma de la célula interfásica y son el resultado de la pérdida de fragmentos cromosómicos o cromosomas enteros que no se han orientado correctamente en anafase, y tienen valor en el diagnóstico de genotoxicidad (Castillo, 2011).

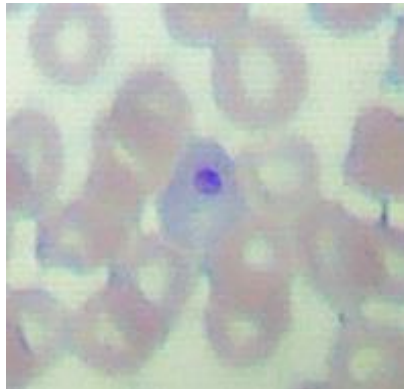


Figura 30. Fotografía de frotis sanguíneo de ratón, al centro se encuentra un EPC-MN, tinción con Giemsa, 100x

El ensayo de micronúcleos (MN), se realiza tanto *in vivo* como *in vitro*, se usa como prueba primaria en el diagnóstico genotóxico; diseñado para proteger a los cromosomas, monitoreando los efectos de sustancias químicas sobre los mecanismos genéticos siendo avalado por las agencias reguladoras como la FDA (Rocha, 2008).

##### a. Historia

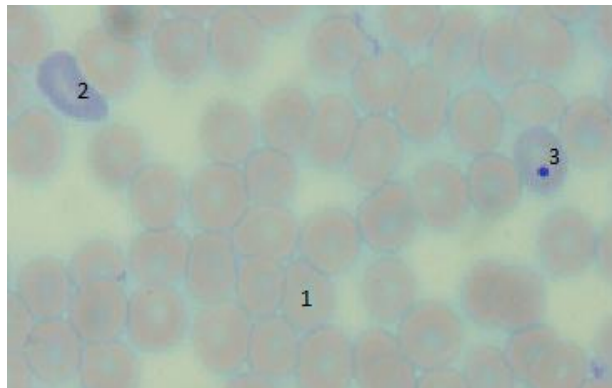
El primero en encontrar un MN fue Howell en un extendido eritrocitario posteriormente fue descrito por Jolly. Por lo que actualmente en hematología se le conoce como cuerpos de Holly-Jolly, descritos frecuentemente como pequeños restos nucleares con forma generalmente redonda o almendrada con un diámetro de 0.4-1.6µm (Quillo, 2011).

Con el colorante Giemsa se tiñen de color rosa los eritrocitos normocrómicos (ENC) y de azul a violeta los eritrocitos policrómicos (EPC), los MN se tiñen de morado. (Figura 19)



El ensayo de MN fue desarrollado por W. Schmid quien originalmente propuso practicarlo en la medula ósea de ratón. Actualmente la técnica se ha estandarizado en una gran variedad de tejidos y especies y se realiza en diferentes tipos celulares (Quillo, 2011).

El uso de la técnica del recuento de MN como medida de daño cromosómico sobre cultivos de linfocitos humanos fue propuesto por primera vez por Countryman y Heddle en 1976. El año 1999 fue crucial para el ensayo de MN, ya que la técnica fue validada a nivel mundial y considerada como un biomarcador efectivo de daño en el DNA (Zalacain, 2005).

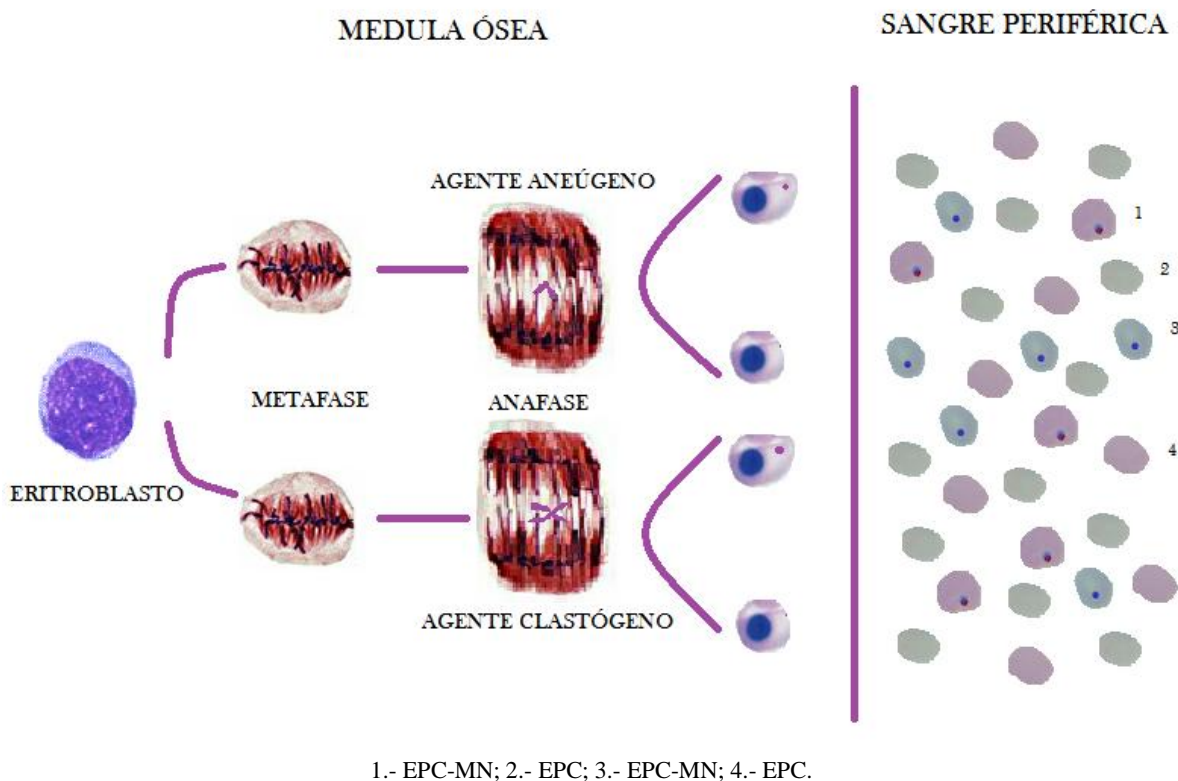


**Figura 31. Fotografía de frotis sanguíneo de ratón, en donde 1: ENC, 2: EPC y 3: EPC-MN, tinción con Giemsa, 100x.**

#### b. Fundamento del ensayo de MN

Los micronúcleos se forman en la eritropoyesis en la medula ósea, en el eritroblasto, este todavía tiene núcleo. El agente mutagénico actúa durante la anafase, si se trata de un agente aneúgeno ocasiona que una de las cromátidas no se una al huso acromático, ocasionando rezago anafásico dando como resultado un normoeritrocito normal y uno con un MN; pero si se trata de un agente clastógeno, este ocasiona que un cromosoma entero sufra rezago anafásico; el normoeritroblasto va expulsando su núcleo, por proceso normal, pero el MN no puede ser expulsado así que lo conserva y sale a sangre periférica como reticulocito-MN o EPC-MN, pero todavía con restos de RNA; por eso el colorante de giemsa que es básico tiñe al EPC de lila o azul y al MN de morado, conforme pasa el tiempo pierde esos restos de RNA y pasa a ENC o ENC-MN y se tiñe de rosa (Figura 20) (Rocha, 2008).

Para un estudio agudo se analizan los EPC-MN ya que son los jóvenes, pero para un estudio subcrónico también se cuentan los ENC-MN, ya que son estudios más prolongados (Zalacain, 2005).



**Figura 32. Formación de MN por el tratamiento con clastógenos o aneuploidógenos y su diferenciación en EPC o ENC con tinción de Giemsa.**

El índice de citotoxicidad nos indica si hubo una disminución en la proliferación normal de las células una excesiva maduración de las células. No debe de ser 20 % mayor o menor. Para determinar la citotoxicidad se examina el índice de citotoxicidad (Quillo, 2011):

$$I.C. = \frac{EPC}{(ENC + EPC)} * 100$$

Donde:

- I.C. = índice de citotoxicidad o % EPC
- EPC = eritrocitos policromáticos
- ENC = eritrocitos normocrómico

Mientras que el índice de genotoxicidad nos indica un daño al material genético. Lo obtenemos contando 2000 EPC cuantificando los EPC-MN que hay presentes en la muestra (Quillo, 2011).

c. Evaluación de otros antineoplásicos

La mayoría de los antineoplásicos son agentes citostáticos, por lo tanto disminuyen la frecuencia de división celular; además como ya se ha señalado para los organometálicos, actúan sobre la estructura del DNA de manera directa o indirectamente al formar ROS, por lo que es importante observar los resultados de las evaluaciones de micronúcleos de este tipo de antineoplásicos (tabla 1).

**Tabla 1. Resumen de la evaluación de genotoxicidad y citotoxicidad mediante el ensayo de MN *in vivo* de antineoplásicos organometálicos.**

Compuesto	Dosis	T max inducción (hrs)	% de Citotoxicidad	MN
Cis-platino (Morales, 2004)	0.28 mg/kg	32	20.6	20.0
	0.56 mg/kg	38	20.0	30.9
	0.99 mg/kg	47	1.23	76.7
Ph <sub>2</sub> SbS <sub>2</sub> PPh <sub>2</sub> (Socacui, 1994)	10 mg/kg*	24	40	1.4
	20 mg/kg*	24	38.0	1.8
Ph <sub>2</sub> SbS <sub>2</sub> P(OPr-i) <sub>2</sub> (Socacui, 1994)	10 mg/kg*	24	38.5	2.5
	20 mg/kg*	24	36.5	2.75
Casiopeína Igly (Sánchez, 2006)	0.05 mg/kg*	96	4.9	85.0
Casiopeína IIgly (Sánchez, 2006)	1.05 mg/kg*	96	6.9	106.0
	2.21 mg/kg*	96	6.7	ND
	4.42 mg/kg*	96	4.1	ND
Casiopeína III-I a (Sánchez, 2006)	3.085 mg/kg*	96	11.2	87.0
	6.17 mg/kg*	96	14.8	ND

ND: no determinado



## V. ANTECEDENTES DEL COMPUESTO LQM 402

### a. Propiedades del compuesto LQM 402

Para poder obtener nuevos fármacos capaces de ofrecer mayor número de efectos benéficos y disminuir al mínimo los efectos adversos, se han buscado nuevas técnicas para el desarrollo de estos. Como las técnicas basadas en el diseño asistido por computadora, simulando su síntesis y evaluación para la obtención de nuevos fármacos, dando como resultado los compuestos de la serie LQM. (Quillo, 2011).

El compuesto LQM 402 es la cabeza de serie de un grupo de compuestos organometálicos que tienen un centro de  $\text{Cu}^{2+}$ , que se han diseñado y sintetizado en el laboratorio de Química Medicinal de la FES Cuautitlán que está a cargo del Dr. Enrique Ángeles. Sus acciones biológicas comenzaron a estudiarse en el Laboratorio de Farmacología del Infarto de la Dra. Luisa Martínez, catedrática también de la FESC, donde se determinó su posible actividad anti-aritmica. Sin embargo, casi a la par se decidió evaluar el potencial citotóxico de este compuesto sobre líneas celulares de origen neoplásico. El primer trabajo fue el realizado por Quillo Duarte; en cuya tesis dice que: “El compuesto análogo al compuesto LQM 319 denominado LQM 402 presenta una mayor efectividad sobre líneas celulares D54, Vero y Hela ya que este compuesto esta unido a cobre presentando posiblemente una actividad similar a Cis-platino” (Quillo, 2011).

Polvo fino color verde. Soluble en agua de alta pureza. En disolución se observa inestabilidad del compuesto bajo condiciones de impurezas, observando un cambio en el color de la solución de verde a café que indica cambios en el estado de oxidación del cobre.

Su fórmula química es  $\text{C}_{48}\text{O}_{15}\text{N}_4\text{H}_{72}\text{Cu}_4$ , ya que es una molécula grande tiene un peso molecular de 1201g/mol, su punto de fusión es de 208°C a 210°C. Por cuestiones de patente no se puede mostrar la estructura del compuesto, ni mencionar otras características del mismo.

b. Estudios preclínicos de los nuevos fármacos

Es largo el camino para industrializar y poner a la venta un fármaco, ya que después de diseñarlos y sintetizarlos, los estudios iniciales son precisamente los que se desarrollan en animales de laboratorio para verificar que no sean tóxicos y que cumplen con las características farmacológicas determinadas. (Rocha, 2008).

Los estudios preclínicos tienen como objetivos obtener información básica acerca de la seguridad del fármaco y su actividad farmacológica, es decir, su capacidad de producir un efecto terapéutico y los mecanismos por los cuales produce dicha respuesta; es esta fase preclínica en la que se estudia la toxicidad del fármaco, con el fin de establecer un margen terapéutico que indique cuál es la dosis necesaria para que se presenten los efectos deseados y cuál es la dosis en la cual se empiezan a presentar efectos adversos y tóxicos; este margen terapéutico es necesario para los estudios clínicos, donde las dosis iniciales administradas a los humanos son más bajas que las utilizadas en los animales (Villegas, 2007).

Determinación toxicológica

Las pruebas de toxicidad son parte importante del desarrollo de nuevos fármacos, pues constituyen las primeras herramientas dentro de los estudios preclínicos para seleccionar y descartar candidatos a fármacos. Algunas de estas pruebas de toxicidad son (Villegas, 2007):

-Toxicidad aguda.- Es la toxicidad que se presenta por altas dosis del fármaco, se debe estudiar utilizando dos especies de animales y dos vías de administración.

-Toxicidad crónica.- Es la toxicidad que se presenta por el uso prolongado del fármaco a dosis terapéuticas, se debe estudiar en dos especies de animales por la vía de administración que se piensa emplear en humanos y por un tiempo de seis meses a un año.

-LD-50.- Es la dosis letal 50, la dosis a la cual muere el 50% de los animales a los cuales se les administra el fármaco.



-Carcinogénesis.- Es la capacidad que tiene un fármaco de producir cáncer, se debe estudiar en dos especies animales, administrando el fármaco por vía oral y por un tiempo de entre dieciocho meses a dos años.

-Teratogenia.- Es la capacidad que tiene el fármaco de producir malformaciones y alteraciones en el feto, por lo cual se debe estudiar en dos especies animales en periodo de gestación.

-Mutagénesis.- Es la capacidad que posee el fármaco de provocar alteraciones genéticas.

Dichos estudios no sólo se limitan a los nuevos medicamentos, también se aplican a la mayor parte de sustancias tóxicas químicas industriales (pesticidas, agroquímicos, cosméticos, plásticos, etcétera) y algunos elementos naturales como el arsénico (Guevara, 2011).

Dado que los agentes tóxicos ejercen sus efectos de manera diversa, es importante conocer y evaluar su toxicidad durante la exposición, así como los eventos celulares asociados a nivel genotóxico y citotóxico, mediante el uso de biomarcadores-exposición, efecto y susceptibilidad, los cuales son observaciones cuantificables de alteraciones biológicas (Rocha, 2008).



## JUSTIFICACIÓN

El cáncer es una de las enfermedades que aumenta cada año el número de casos mundialmente, por lo tanto es importante el desarrollo de nuevos compuestos con actividad antineoplásica y con los menores efectos adversos. Por este motivo en el Laboratorio de Química Medicinal de la FES Cuautitlán, se están diseñando moléculas mediante el modelo QSAR, dentro de las cuales se han desarrollado los compuestos denominados LQM, de los que se deriva el LQM 402, el cual tiene un centro de cobre.

Como parte del proceso para poder sacar un fármaco a la venta, se llevan a cabo estudios preclínicos, de los estudios que se les realiza son los de toxicidad que comprende la determinación de genotoxicidad y citotoxicidad, con esta finalidad se utiliza el ensayo citogenético de micronúcleos, capaz de detectar indirectamente ruptura o pérdida cromosómica y que actualmente se encuentra en gran auge dada su utilización en líneas de investigación sobre mutagénesis, para conocer *in vitro* e *in vivo* el efecto genotóxico.

En este trabajo se evaluó el potencial genotóxico y citotóxico del compuesto LQM 402, como parte de los estudios preclínicos antes de empezar las evaluaciones en humanos.



## OBJETIVOS

Evaluar al compuesto LQM 402 (con un centro de cobre), empleando la técnica citogenética del ensayo agudo de MN, para ver su genotoxicidad y citotoxicidad, como parte de los ensayos preclínicos de nuevos fármacos.

Objetivos particulares.

1. Determinar la frecuencia de EPC inducida por la administración del compuesto LQM 402, contando 2000 ENC a 3 dosis (5 mg/kg, 10 mg/kg, 15 mg/kg), para evaluar la citotoxicidad del compuesto.
2. Determinar la frecuencia de EPC-MN, inducida por la administración del compuesto LQM 402, contando 2000 EPC a 3 dosis (5 mg/kg, 10 mg/kg, 15 mg/kg), para evaluar la genotoxicidad del compuesto.
3. Determinar la capacidad antigenotóxica del compuesto LQM 402 al retarlo con un mutágeno y evaluando la frecuencia de EPC y EPC-MN, en el tratamiento de 5 mg/kg, 10 mg/kg y 15 mg/kg.





## HIPÓTESIS

Si el compuesto LQM 402 (con un centro de cobre), se asemeja a otros antineoplásicos metalo-activos entonces podría presentar cierto efecto genotóxico que se puede evaluar con el ensayo de MN en sangre periférica de ratón CD1.



## MATERIAL Y MÉTODO

### Material biológico

45 Ratones macho CD1 con un peso de 25 gr  $\pm$  5 gr, mantenidos bajo las mismas condiciones ambientales y con libre acceso de agua y alimento durante la experimentación. Estos animales fueron proporcionados por el bioterio de la ENM del IPN y en todo momento se cumplieron las normas establecidas para el uso y cuidado de los animales de laboratorio.

### Compuesto problema

Compuesto LQM 402, disuelto en agua de alta pureza (18  $\Omega$ ), obtenida del purificador *clasic UVF EIGA* del Laboratorio de Química Medicinal de la FESC.

### Material

5 jaulas para animales	Jeringas para insulina
Tijeras de disección	Microscopio óptico
Vaso coplin	Portaobjetos
Probeta 50ml	Pipetas graduadas de 5 y 10ml
Balanza analítica	Piseta

### Reactivos

Metanol	Colorante de Giemsa
Buffer de fosfatos pH 6.8	Agua destilada
Agua desionizada	Control positivo MMC
Control negativo SSF	



### Metodología

1. Se disuelve el compuesto LQM 402 en agua de alta pureza (18  $\Omega$ ), del purificador *clasic UVF EIGA* del laboratorio de química medicinal.
2. Se dividen los ratones en 8 lotes de 5 ratones.

Tabla 2. Dosificación de los lotes.

	Lote	Dosis
controles	Ctrl +	60 mg/Kg
	Ctrl -	SSF
LQM 402	D <sub>1</sub>	5 mg/kg
	D <sub>2</sub>	10 mg/kg
	D <sub>3</sub>	15 mg/kg
LQM 402 - control (+)	D <sub>1</sub> T	5 mg/kg + 60 mg/kg
	D <sub>2</sub> T	10 mg/kg + 60 mg/kg
	D <sub>3</sub> T:	15 mg/kg + 60 mg/kg

3. Los tratamientos se les administraron por vía intraperitoneal en una sola dosis.
4. Se tomaron muestras de sangre de la cola de los ratones, a las 0 hrs, 24 hrs, 48 hrs, 72 hrs después de la administración; realizándose frotis por triplicado, en portaobjetos limpios y desengrasados.
5. Los portaobjetos se fijaron en metanol absoluto y se tiñen con el colorante de Giemsa (giemsa 1:10 buffer de fosfatos pH 6.8) en un vaso coplin, posteriormente se lavaron y dejaron secar al aire. Las laminillas se protegen de la luz.
6. Para hacer la evaluación de citotoxicidad se contaron 2000 ENC de cada ratón, diferenciando cuantos EPC había presentes. El conteo se realizó con el objetivo de inmersión (100X).

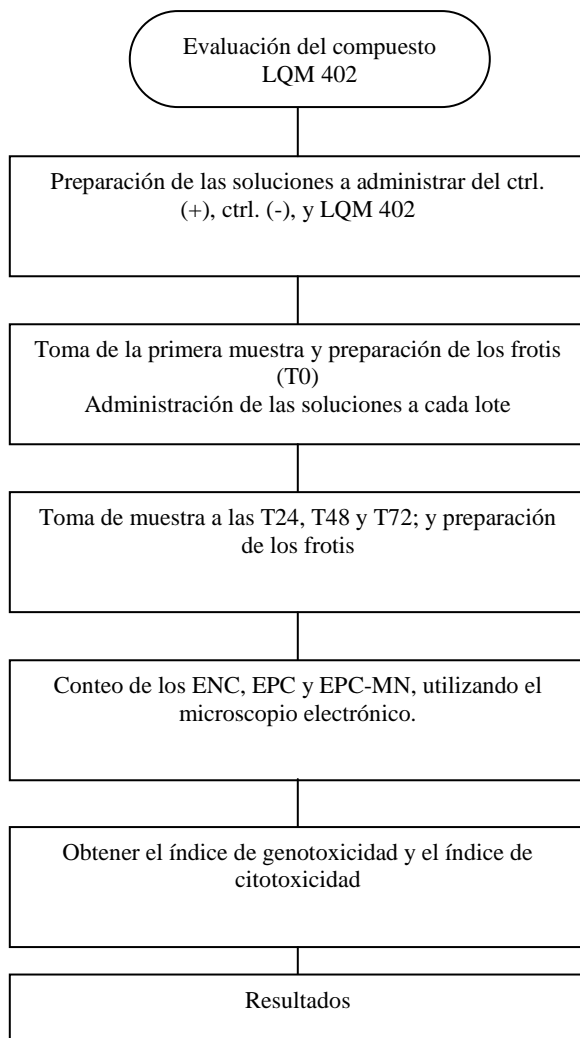
$$I.C. = \frac{EPC}{(ENC + EPC)} * 100$$

7. Mientras que para evaluar la genotoxicidad se cuentan 2000 EPC de cada ratón y se identificaron cuantos EPC-MN había presentes. El conteo se realizó con el objetivo de inmersión (100X).



8. Se obtuvo el promedio de cada lote y DE, para realizar el análisis estadístico de ANOVA para los datos obtenidos, con el programa Graphpad instat 3.

Diagrama de flujo





---

## RESULTADOS

### a. Frecuencia de eritrocitos policromáticos (EPC).

En la tabla 3 se observan los resultados obtenidos de los promedios de cada lote y su error estándar, con lo que se elaboraron los gráficos 1, 2 y 3.

El control negativo (solución salina fisiológica, SSF) a todos los tiempos tiene un valor de % de EPC parecido entre sí, de 4.5 a 6.4% EPC, por lo que el control está bien, en el análisis estadístico (análisis de varianza, ANOVA) al comparar todos los tiempos entre ellos se obtiene una  $P > 0.05$ , lo que nos dice que los valores entre si no tienen diferencias significativas. (Tabla 1, Gráfico 1)

Al tiempo 0 horas todos los lotes tienen las mismas características al iniciar el experimento, ya que los valores del % de EPC está entre 4.6 a 6.4, al compararlos entre sí con el ANOVA se obtiene una  $P > 0.05$ .

En cuanto al control positivo (Mitomicina C, MMC), se observa que a las 24 y 48 horas, son los tiempos donde el valor de EPC es mayor al 11.0%, y a las 72 horas se nota una disminución hasta 8.0% EPC, y con el ANOVA obtenemos un valor de  $P < 0.001$ , lo que indica que es una diferencia significativa. (Gráfico 4)

La dosis 1 (5 mg/kg) a todos sus tiempos con el ANOVA obtenemos un valor de  $P > 0.05$ . por lo tanto no tiene diferencia significativa en comparación con el control negativo ya que tiene valores de 4.4 a 5.6% EPC en los cuatro tiempos y al comparar los valores del % EPC a todos los tiempos entre sí y contra el control negativo (Gráfico 1)

Mientras que las dosis 2 (10 mg/kg) y dosis 3 (15 mg/kg) hasta las 24 horas no tiene una diferencia significativa con el control negativo y la dosis 1 (5 mg/kg), pero a las 48 hay un descenso en la frecuencia de EPC hasta 2.1%, en ambos casos, en el ANOVA al hacer la comparación de las 24 y 48 horas de estos tratamientos se obtiene un valor de  $P < 0.001$ , por lo cual es una diferencia significativa; estos tratamientos a las 72 horas mantiene la disminución de la frecuencia de EPC como a las 48 horas, en el ANOVA se obtuvo un valor de  $P > 0.05$  al compararlos dos tiempos y a las dos dosis entre si, por lo que no hay diferencia significativa. (Gráfico 1, 2 y 3)

En cuanto a los tratamientos de reto mutágeno contra antimutágeno [Dosis - control positivo (MMC)]. La D1T (dosis 1 - MMC) al compararlo con su dosis correspondiente (dosis 1, 5 mg/kg) sin mutágeno y el control negativo, con ANOVA se obtiene un valor de  $P > 0.05$ , por lo tanto no hay diferencia significativa, aun que va teniendo una disminución del valor de EPC a las 48 horas y 72 horas. (Tabla 1 y Gráfico 1)



Para los tratamientos D<sub>2</sub>T (dosis 2 - MMC) y D<sub>3</sub>T (dosis 3 - MMC), los valores del % de EPC son parecidos a los de las dosis 2 (10 mg/kg) y dosis 3 (15 mg/kg) correspondiente sin mutágeno, a las 48 horas se observa una disminución a menos del 2.0 % EPC en ambas dosis, al realizar el ANOVA y comparar los valores de las 24 horas con el control negativo con ANOVA obtenemos un valor de  $P < 0.05$ , pero al hacer la comparación 24 horas con los de las 48 horas se obtiene un valor de  $P < 0.001$ , lo cual es una diferencia significativa importante, pero al comparar las 48 horas y las 72 horas entre sí, no hay diferencia significativa ya que se obtiene un valor de  $P > 0.005$ , lo mismo al compararlo entre ellas y con sus dosis correspondientes. (Tabla 1, Gráfico 1, 2, 3)

Ningún tratamiento se comportó como el control positivo (MMC).

Tabla 3. Resultados del %EPC y su error estándar, obtenidos en los diferentes tiempos de la evaluación de citotoxicidad del compuesto LQM 402.

TIEMPO		T0	24	48	72
LOTE	RATONES	% EPC $\pm$ e.e.	% EPC $\pm$ e.e.	% EPC $\pm$ e.e.	% EPC $\pm$ e.e.
CRTL (-)	5	6.4 $\pm$ 0.3	4.5 $\pm$ 0.3	5.3 $\pm$ 0.2	4.8 $\pm$ 0.3
CTRL (+)	4	6.2 $\pm$ 0.2	11.7 $\pm$ 0.8	11.4 $\pm$ 0.6	8.0 $\pm$ 0.5
D <sub>1</sub>	5	4.6 $\pm$ 0.4	5.3 $\pm$ 0.2	5.6 $\pm$ 0.5	4.4 $\pm$ 0.6
D <sub>2</sub>	5	6.2 $\pm$ 0.4	5.4 $\pm$ 0.2	2.1 $\pm$ 0.2	1.8 $\pm$ 0.4
D <sub>3</sub>	5	5.7 $\pm$ 0.2	5.6 $\pm$ 0.1	5.4 $\pm$ 0.1	1.9 $\pm$ 0.1
D <sub>1</sub> T	5	4.6 $\pm$ 1.2	5.4 $\pm$ 0.6	4.7 $\pm$ 0.1	3.4 $\pm$ 0.1
D <sub>2</sub> T	5	6.1 $\pm$ 0.3	6.0 $\pm$ 0.7	1.9 $\pm$ 0.1	3.0 $\pm$ 0.3
D <sub>3</sub> T	5	5.6 $\pm$ 0.2	5.7 $\pm$ 0.5	1.4 $\pm$ 0.1	1.7 $\pm$ 0.2

e.e: error estándar

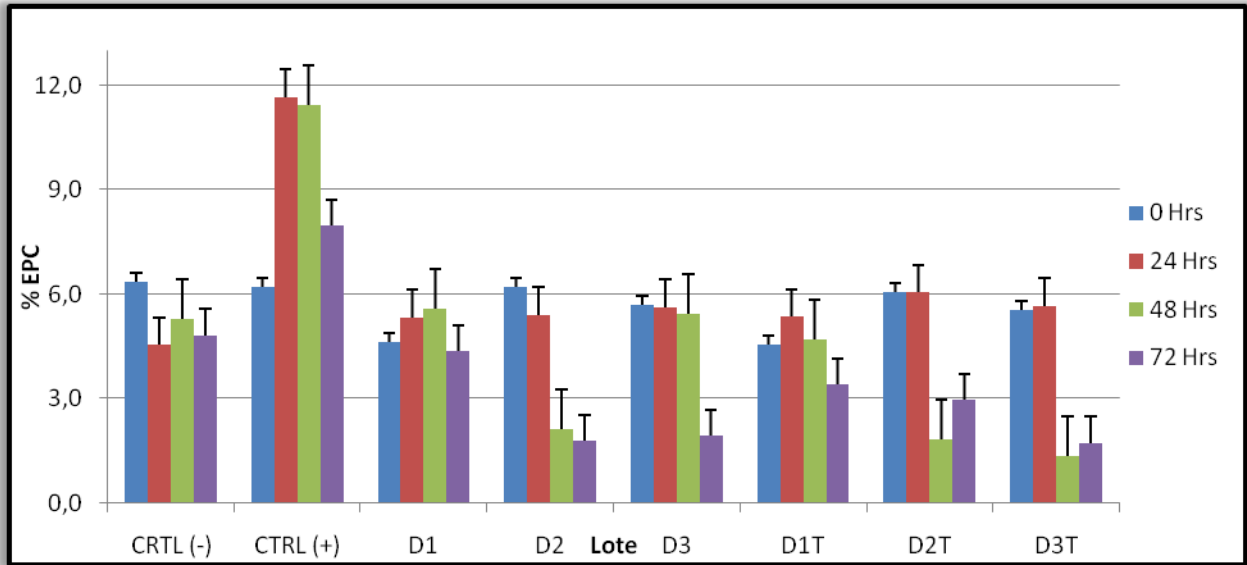


Gráfico 1. Porcentaje (%) de EPC de la evaluación de citotoxicidad del compuesto LQM 402, en sangre periférica de ratón CD1. Resultados obtenidos mediante el análisis de ANOVA donde  $F = 30.495$ , un valor de  $P < 0.0001$  y un intervalo de confianza del 95%, lo cual es extremadamente significativo.

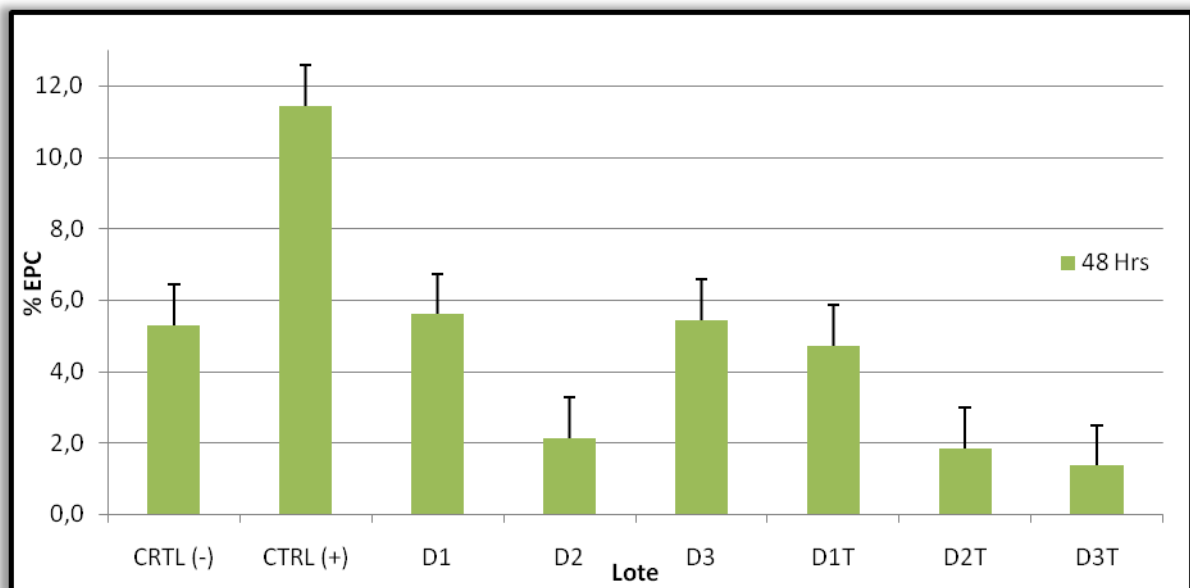


Gráfico 2. Resultados del % EPC a las 48 hrs para la evaluación de citotoxicidad del compuesto LQM 402, en sangre periférica de ratón CD1.

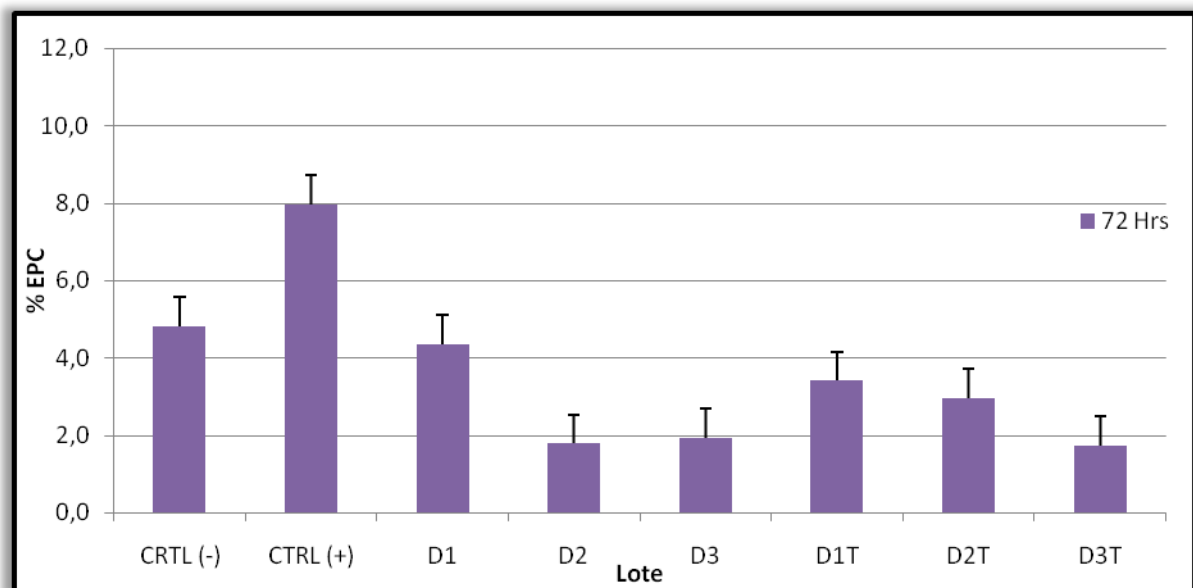


Gráfico 3. Resultados del % EPC a las 72 hrs para la evaluación de citotoxicidad del compuesto LQM 402, en sangre periférica de ratón CD1.

b. Frecuencia de eritrocitos policromáticos micronucleados (EPC-MN)

En la Tabla 3 se muestran los resultados de la frecuencia de EPC-MN, con los cuales se elaboraron los Gráfico 4, 5 y 6.

Todos los lotes a tiempo 0 horas la frecuencia de EPC-MN es similar, en el ANOVA comparados entre sí tienen un valor de  $P > 0.05$ , lo que indica que los lotes tenían las mismas características desde el comienzo del experimento.

El control negativo tiene un promedio de 2.4 EPC-MN y en el ANOVA al comparar todos los tiempos del control negativo (SSF) se obtiene un valor de  $P > 0.05$ , lo que representa una diferencia no significativa.

El control positivo (MMC), a las 48 horas es su tiempo de máxima inducción obteniendo valores de 20.8 EPC-MN, comprados los valores de las 24 horas con los de las 48 horas por ANOVA se obtiene un valor de  $P < 0.001$ , lo que indica una diferencia significativa





importante; a las 72 horas disminuye notablemente el valor de micronúcleos hasta valores de 11.8 EPC-MN, al comparar estos dos tiempos mediante ANOVA se obtienen valores de  $P < 0.001$ , lo cual nos indica que es una diferencia significativa importante; pero los valores de EPC-MN a las 72 horas al compararlos con 0 horas, obteniéndose por ANOVA una  $P < 0.001$  para esta comparación.

Mientras que para el compuesto LQM 402 a sus tres distintas dosis (5 mg/kg, 10 mg/kg, 15 mg/kg) a las 48 horas es su tiempo en el que el valor de MN esta más elevado, obteniéndose valores similares entre sí que van de 12.4 a 14.6 EPC-MN, pero la frecuencia de EPC-MN es menor que la inducida por la MMC las 48 horas, al compararlos resultados de las 24 horas con los de las 48 horas de cada dosis por ANOVA nos da una  $P < 0.001$ , lo cual es una diferencia significativa. La diferencia entre los resultados entre las tres dosis a las 48 hrs al compararlos entre sí por ANOVA obtenemos una  $P > 0.05$ , lo cual quiere decir que no hay diferencia significativa entre los resultados de las tres dosis (Tabla 3, Gráfico 4 y 5). A las 72 hrs disminuyen todas las frecuencias de EPC-MN de las tres dosis significativamente hasta los valores de 4.2, 7.4 y 3.6 EPC-MN respectivamente, al compararlos con los sus valores respectivos a las 48 horas por ANOVA obtenemos un valor de  $P < 0.001$ , lo que representa una diferencia significativa. Pero al hacer la comparación de las tres dosis a las 72 horas entre ellas por ANOVA obtenemos un resultado de  $P > 0.05$  (Tabla 4, Gráfico 4 y 6).

En cuanto a los tratamientos de reto mutágeno contra antimutágeno [Dosis - control positivo (MMC)]. Los tres tratamientos D<sub>1</sub>T (dosis 1 - MMC), D<sub>2</sub>T (dosis 2 - MMC) y D<sub>3</sub>T (dosis 3 - MMC) se comportan muy similar como el control negativo (SSF), al comparar todos los tiempos de las dosis entre sí y con el control negativo (SSF) de ANOVA se obtiene una  $p > 0.05$ , al compararlos los tiempos 48 horas y 72 horas con sus dosis correspondientes por ANOVA se obtiene un valor de  $P < 0.001$ , lo que quiere decir que si hay diferencia significativa entre los resultados. (Tabla 4, Gráfico 4, 5 y 6)



Tabla 4. Resultados de la frecuencia de EPC-MN obtenidos en los diferentes tiempos de la evaluación de genotoxicidad del compuesto LQM 402.

TIEMPO		0 Hrs	24 Hrs	48 Hrs	72 Hrs
LOTE	RATONES	EPC-MN $\pm$ e.e.	EPC-MN $\pm$ e.e.	EPC-MN $\pm$ e.e.	EPC-MN $\pm$ e.e.
CRTL (-)	5	2.4 $\pm$ 0.0	2.6 $\pm$ 0.2	3.6 $\pm$ 0.2	4.0 $\pm$ 0.4
CTRL (+)	4	3.0 $\pm$ 0.0	5.5 $\pm$ 0.5	20.8 $\pm$ 3.2	11.8 $\pm$ 0.5
D <sub>1</sub>	5	1.6 $\pm$ 0.0	3.2 $\pm$ 0.2	12.4 $\pm$ 1.4	4.2 $\pm$ 0.4
D <sub>2</sub>	5	3.0 $\pm$ 0.3	2.2 $\pm$ 0.4	12.8 $\pm$ 1.4	7.4 $\pm$ 0.4
D <sub>3</sub>	5	1.4 $\pm$ 0.2	2.8 $\pm$ 0.2	14.6 $\pm$ 1.4	3.6 $\pm$ 0.2
D <sub>1</sub> T	5	3.3 $\pm$ 0.3	3.0 $\pm$ 0.0	4.0 $\pm$ 0.4	5.8 $\pm$ 0.7
D <sub>2</sub> T	5	2.6 $\pm$ 0.2	2.8 $\pm$ 0.2	6.6 $\pm$ 0.2	6.4 $\pm$ 0.2
D <sub>3</sub> T	5	2.4 $\pm$ 0.4	2.6 $\pm$ 0.2	2.6 $\pm$ 0.2	2.8 $\pm$ 0.4

e.e: error estándar

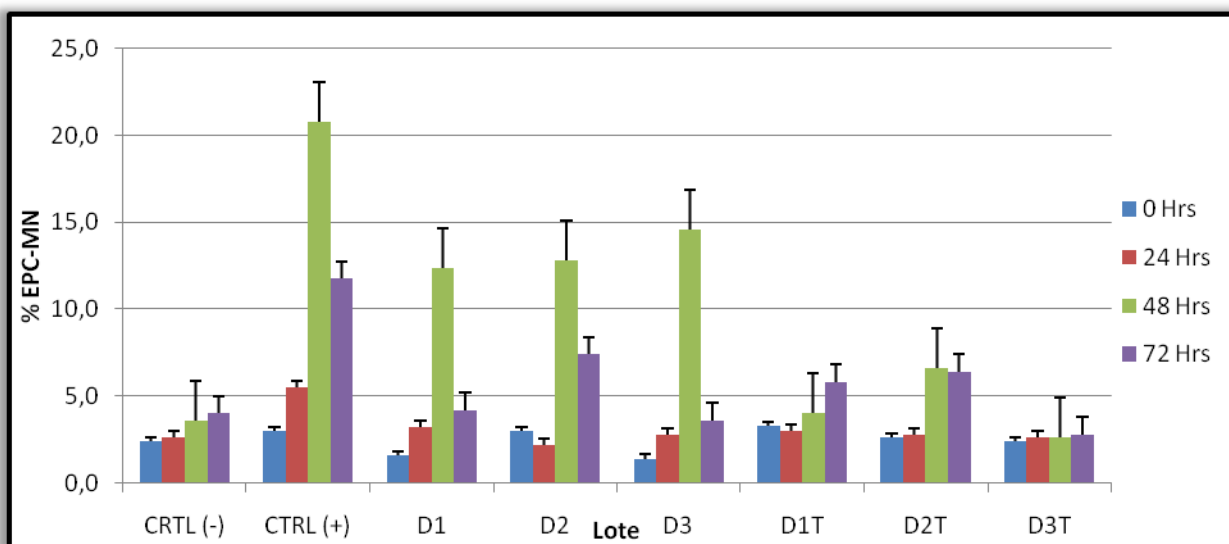


Gráfico 4. Porcentaje (%) de la frecuencia de EPC-MN en 2000 EPC, en sangre periférica de ratón CD1, para la evaluación de genotoxicidad del compuesto LQM 402. Resultados obtenidos mediante el análisis de ANOVA donde F = 36.449, un valor de P < 0.00001 y un intervalo de confianza del 95%, lo cual es extremadamente significativo.

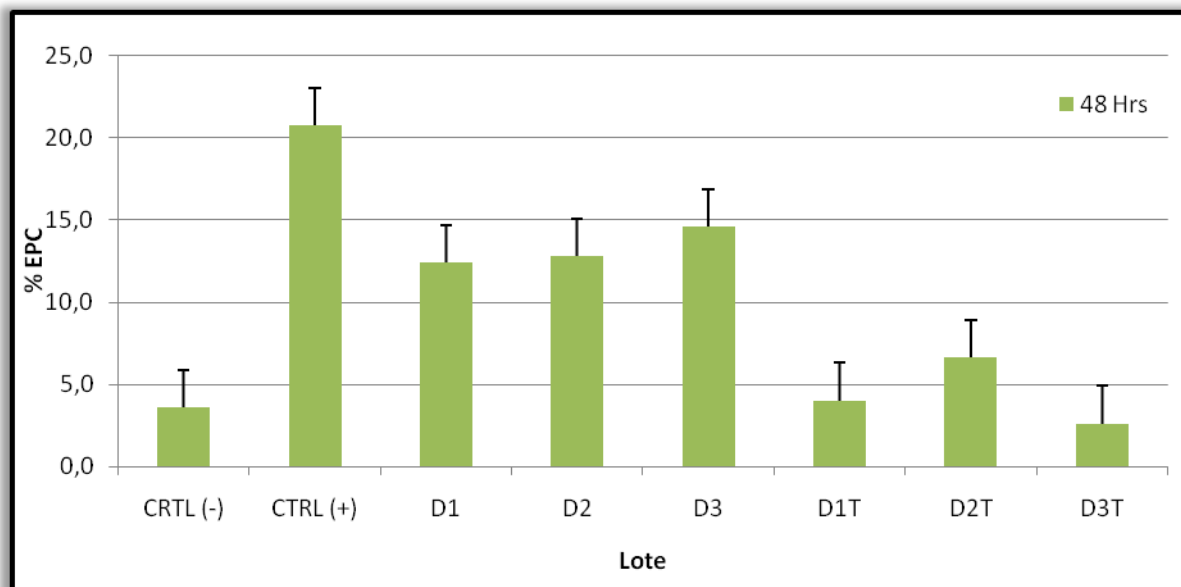


Gráfico 5. Resultados de EPC-MN a las 48 hrs, tiempo de máxima inducción, en la evaluación de genotoxicidad del compuesto LQM 402, en sangre periférica de ratón CD1.

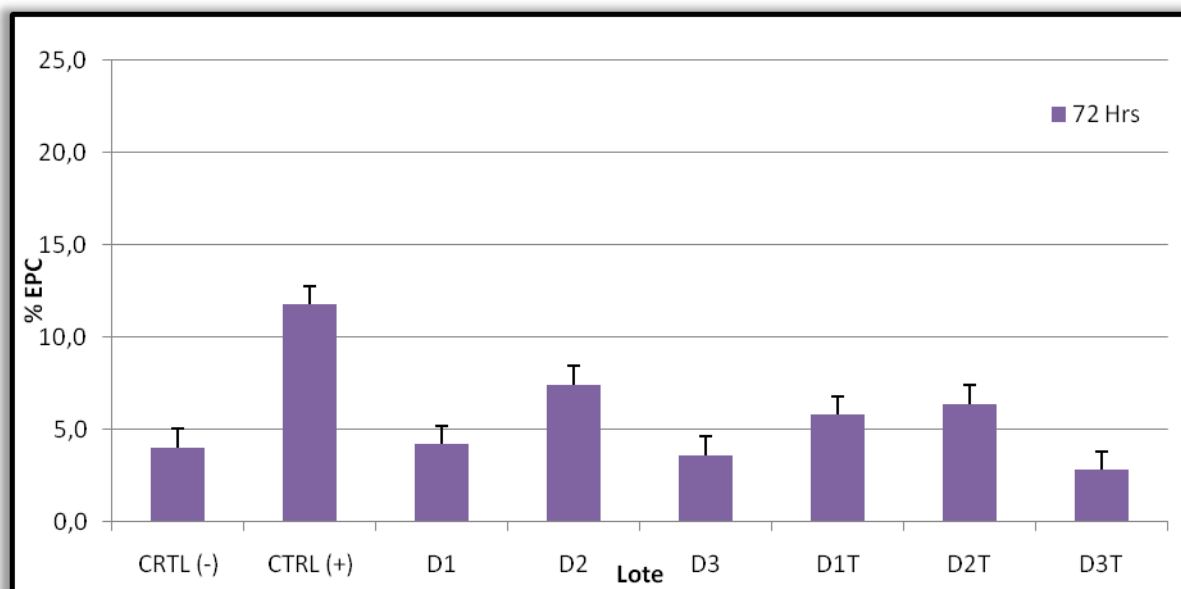


Gráfico 6. Resultados de EPC-MN a las 72 hrs para la evaluación de genotoxicidad del compuesto LQM 402, en sangre periférica de ratón CD1.



---

## DISCUSIÓN

El compuesto LQM 402 se pretende usar como posible antineoplásico, se propone que este compuesto tiene un mecanismo de acción parecido al del cis-platino, aun que con más parecido con las Casiopeínas ya que también poseen un centro de cobre, además como ya se probó su actividad antiproliferativa del compuesto LQM 402, en la tesis de Quillo Duarte, 2011, por ello se realizó el ensayo de MN *in vivo* en sangre periférica de ratón para evaluar la citotoxicidad y la genotoxicidad del compuesto, para seguir adelante con otras pruebas que se le realizan a los nuevos fármacos antes de salir al mercado.

Se usó la MMC como control positivo, como era de esperarse aumentó la frecuencia de EPC y de EPC-MN, efecto del daño citotóxico y genotóxico respectivamente, a las 48 horas después de la administración es su periodo de máxima inducción como se observa en el gráfico 1 y 4, lo cual nos indica que está funcionando adecuadamente. Aun que la MMC es un antibiótico citostático depresor de la médula ósea, causando leucopenia, neutropenia, trombocitopenia y anemia; al causar anemia hay una baja producción de eritrocitos lo que no se observa en nuestro experimento, pero con lo reportado en el artículo de Morales, 2004; en el que en sus resultados hay un aumento de la frecuencia de EPC a las 40 horas y a las 50 horas desciende ligeramente y a las 55 horas hay un descenso significativo en la frecuencia de EPC, pero ese fue un estudio crónico se midió la frecuencia hasta las 72 horas, y el que se realizó con el compuesto LQM 402 fue un estudio agudo de 48 horas, por lo que no se observó el efecto citostático completo.

La dosis D<sub>1</sub> (5 mg/kg) en cuanto a citotoxicidad tiene un comportamiento muy similar al control negativo (SSF), es decir, que la dosis D<sub>1</sub> no está generando un efecto citotóxico significativo. En cuanto a la genotoxicidad es notorio un incremento en la producción de EPC-MN, llegando al 50% del nivel de la genotoxicidad de la MMC o a lo reportado por Sánchez, 2006 sobre las Casiopeínas (ver tabla 1).

Las dosis D<sub>2</sub> (10 mg/kg) y D<sub>3</sub> (15 mg/kg), se comportan muy similar entre sí, no tienen diferencias significativas en cuanto al efecto genotóxico y el efecto citotóxico entre estas, las dos dosis tienen un considerable efecto citotóxico, ya que disminuyen la liberación de EPC a



sangre periférica, por debajo del control negativo; estas dosis tienen poca producción de EPC y la misma cantidad de EPC-MN que la  $D_1$  (5 mg/kg), por lo tanto, con esta relación se podría considerar que estas dosis tienen un efecto citotóxico importante y el efecto genotóxico es relevante pero no tan genotóxico como otros compuestos metaloactivos (ver tabla 1). (Gráfico 1 y 4)

Con los resultados obtenidos de las tres dosis se puede decir que la citotoxicidad del compuesto depende de la dosis hasta cierto punto, ya que se tienen distintos efectos entre la dosis  $D_1$  y  $D_2$ , pero la  $D_2$  y  $D_3$  tienen el mismo efecto citotóxico; esto puede ser debido que el compuesto detiene el ciclo celular que a las células precursoras no les permite madurar y seguirse dividiendo para poder liberar más EPC a sangre periférica. Pero si es dependiente del tiempo, ya que entre más pasa el tiempo disminuye la frecuencia de EPC. Mientras que el efecto genotóxico no es dependiente de la dosis ya que es similar en todas las dosis la inducción de MN; esto puede ser debido a que tiene un umbral el compuesto en el que aun que se aumente la dosis se produce el mismo efecto, esto se puede deber a que el compuesto ha cubierto todos los sitios de acción y aun que se administre una cantidad mayor del compuesto no hay más sitios donde el compuesto pueda generar su acción. Sin embargo el efecto genotóxico si es dependiente al tiempo de exposición del compuesto, ya que conforme van aumentando las horas de evaluación van cambiando los resultados Tanto el cis-platino y las tres distintas Casiopeínas son dependientes de la dosis, el cis-platino también es dependiente del tiempo, de las Casiopeínas no se reportan los resultados a través del tiempo. (Morales, 2004) (Sánchez, 2006) (Tabla 3 y 4, Gráficos 1 y 4).

En cuanto a la tratamiento de reto  $D_1$ -mutágeno (MMC), se puede observar en el gráfico 1, 2, 4 y 5 que a la hora que la MMC tiene su punto de máxima inducción a las 48 horas, el tratamiento de  $D_1$ T muestra un comportamiento similar genotóxicamente y citotóxicamente al del control negativo (SSF), además es notable la inhibición de los efectos que produce la MMC.

Los tratamientos  $D_2$ T y  $D_3$ T, tienen un comportamiento similar del efecto citotóxico entre ellas, al igual que con sus dosis correspondientes sin la MMC, las dos dosis inhiben por completo los efectos de la MMC tanto genotóxicamente, como citotóxicamente, se producen la misma cantidad de EPC-MN que el control negativo (SSF), pero en cuanto el efecto



citotóxico, al igual que sus dosis correspondientes disminuyen por debajo del control negativo (SSF) en cuanto a la liberación de EPC a sangre periférica. Por lo tanto el efecto genotóxico del compuesto también se ve inhibido al administrarlo con lo MMC (Gráfico 1 y 4)

Se puede decir que la dosis que tiene el mejor comportamiento es la D<sub>1</sub> (5 mg/kg), ya que es la que tiene el comportamiento más parecido al control negativo (SSF), tanto administrado solo el compuesto como en el tratamiento de reto, aunque presenta un efecto genotóxico importante sin llegar a la mitad del efecto que produce la MMC o a otros compuestos metálicos activos (ver tabla 1). Esta dosis con el tratamiento de mutágeno-antimutágeno, se comporta tanto genotóxicamente y citotóxicamente como el control negativo (SSF).

Las dosis D<sub>2</sub> (10mg/kg) y D<sub>3</sub> (15 mg/kg), si tienen más efecto citotóxico y similar efecto genotóxico que la dosis D<sub>1</sub> (5mg /kg), pero en comparación con otros antineoplásicos como se muestra en la tabla 1, tienen menos efectos citotóxicos y genotóxicos que el cis-platino que tiene un efecto genotóxico parecido al de la MMC y un efecto citotóxico mayor al de la MMC; mientras que las Casiopeínas Igli y IIgli a pesar que las dosis son menores a las usadas en este experimento, el efecto genotóxico y citotóxico es parecido e inclusive mayor que el cis-platino que uno es un coordinado de platino y las Casiopeínas son coordinados de cobre, además se sospecha que tienen mecanismos de acción similares. La citotoxicidad de las D<sub>2</sub> y D<sub>3</sub> no se tienen que tomar como una desventaja sino como su potencia antineoplásica. (Morales, 2004) (Sánchez, 2006).

En la tesis de Quillo, 2011; donde se hace la evaluación del compuesto LQM 402 como antiproliferativo, se manejaron dosis menores que en esta tesis, pero a medida que aumentaban la dosis mayor efecto antiproliferativo, por lo tanto el efecto citotóxico de las dosis D<sub>2</sub> (10mg/kg) y D<sub>3</sub> (15 mg/kg), no se tendría que tomar como una desventaja sino como el potencial antiproliferativo del compuesto.

Ya que el compuesto LQM 402 y las Casiopeínas son coordinados de cobre se supondría que son menos tóxicos que el cis-platino, ya que el cobre si se encuentra de forma natural en el organismo, es el tercer elemento más abundante en el organismo después del hierro y del zinc; además es importante para algunas funciones del organismo: se requiere para un crecimiento normal, mecanismos de defensa, fortaleza ósea, maduración de glóbulos rojos y glóbulos



blancos, transporte de hierro y desarrollo cerebral. Además el cobre es excretado por la bilis. (Olivares,; 2005)

Los resultados de genotoxicidad y antigenotoxicidad del LQM402 sugieren que este compuesto ejerce una acción sobre el DNA, ya que por el mismo produce la formación de MN, por arriba de los valores del control negativo, lo cual es característico de los antineoplásicos organometálicos, pero el daño es menor, así como también el efecto citotóxico que con otros compuestos metaloactivos (ver tabla 1).



---

## CONCLUSIONES

Se determinó la frecuencia de EPC inducida por la administración del compuesto LQM 402, para evaluar la citotoxicidad quedando la D<sub>1</sub> como la menos citotóxica ya que se comporta como el control negativo.

Se determinó la frecuencia de EPC-MN, inducida por la administración del compuesto LQM 402, para evaluar la genotoxicidad, resultando que las tres dosis producen la misma frecuencia de EPC-MN, por lo tanto la genotoxicidad del compuesto no fue dependiente de la dosis.

Se determinó la capacidad antigenotóxica del compuesto LQM 402 al retarlo la MMC, se evaluó la frecuencia de EPC-MN y la relación EPC/ENC, los resultados mostraron que el compuesto si inhibe la formación de EPC-MN siendo la D<sub>1</sub> la más efectiva.





---

**REFERENCIAS**

1. Andreia Filipa Ramos Fernandes; (2010); Estudo da Actividade Anti-tumoral de Complexos Organometálicos de Ferro; Universidade De Lisboa; pp 34.
2. Biocancer.com; Ciclo celular, [En línea], actualizado 2010, consultado el 06/09/2012, <http://www.biocancer.com/journal/1217/3-ciclo-celular>
3. Brandan, Nora; Juaristi, Julián; Aguirre, Victoria; Romero Benítez, Margarita; (2002) Oncogenes y genes supresores de tumores; Facultad de Medicina. U.N.N.E. [En línea] Consultado 12/02/2012; <http://med.unne.edu.ar/catedras/bioquimica/pdf/oncogenes.pdf>
4. Carmen Socaciu, Ioan Pasca, Cristian Silvestru, Adela Bara, and Ionel Haiduc; (1994). The mutagenic potential of Some diphenylantimony(iii) dithiophosphorus derivatives; Antitumor organometallics; Vol. 1, No. 4, p. 291-297.
5. Deborah T. Goldberg; (2010) Barron's AP Biology; Barron's Educational Series; 3a ed; 143-147 pp.
6. Erika Castillo, María Luisa Guevara-Fujita y Ricardo Fujita; (2011); Optimización del test de micronúcleos en linfocitos cultivados usando una metodología de gradiente y frotis; Rev. peru. biol. Vol 18, No. 2; 261 – 263 pp.
7. Instituto Nacional del Cáncer de los Estados Unidos de América, ¿Qué es el cáncer?, [En línea], actualizado el 27/01/2012, consultado el 12/02/2012, <http://www.cancer.gov/espanol/cancer/que-es>
8. J. García-Foncillas, E. Bandrés, V. Catalán, F. García Amigot, N. Zabalegui; (2001); Conceptos básicos en biología molecular del cáncer. Susceptibilidad genética; ANALES Sis San Navarra, Vol 24, No 1; 31-52 pp.



9. García Ramos, Juan Carlos, (2007) Estudio QSAR de compuestos de coordinación de cobre de tipo  $[\text{Cu}(\text{N-N})(\text{glicinato})]\text{NO}_3$ , Tesis de licenciatura, Facultad de Química, UNAM, México, Distrito Federal.
10. Gerald Karp, (2009) Cell and Molecular Biology: Concepts and Experiments; Ed. John Wiley & Sons; 6ª ed; 569-589 pp
11. Gilles Gasser, Ingo Ott, and Nils Metzler-Nolte; (2011) Organometallic Anticancer Compounds; J. Med. Chem, Vol. 54, No 1; 3-25 pp.
12. Guevara Chávez, Soledad; (2011) Estudio del origen de los micronúcleos inducidos por compuestos de cobre II (Casiopéinas) en linfocitos humanos *in vitro*, mediante citogenética molecular (FISH), Tesis de maestría, FES-Zaragoza, UNAM, México, Distrito Federal.
13. Manuscript;(2008); New Trends for Metal Complexes with Anticancer Activity; Curr Opin Chem Biol; Vol.12, No 2 April; 197–206 pp.
14. Marcos Malumbres, Mariano Barbacid; (2009); Cell cycle, CDKs and cancer: a changing paradigm; Nature Reviews Cancer; Vol 9; Marzo; 153-166 pp.
15. Martinis, Isarita; Della Rosa, Henrique Vicente; (2004), Considerações Toxicológicas da Exposição Ocupacional aos Fármacos Antineoplásicos, Rev. Bras. Med. Trab., Belo Horizonte; Vol. 2; No 2; 118-125 pp
16. Michelle A. Clark;Richard, Pharm . D.; Luigi X. Cubeddu, M.D.; (2009); Farmacología; 4a Edición; Editorial Lippicott´s; Filadelfia; EUA; pp 483-484.
17. Morales-Ramirez, Pedro, Vallarino-Kelly T, Cruz-Vallejo VL, López-Iturbe R, Álvaro-Delgadillo H., (2004), In vivo kinetics of micronuclei induction by bifunctional alkylating antineoplastics; Mutagenesis vol. 19 no. 3 pp. 207-213



18. Núñez Vidales, Rodrigo; José René Escalona Mugica; (2005); Ciclo Celular; Departamento de Embriología, Facultad de Medicina, UNAM, México, Distrito Federal.
19. Olivares, Manuel; Pizarro, Fernando; Araya, Magdalena (2005) Importancia del cobre en la nutrición infantil, Laboratorio de Micronutrientes, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), Universidad de Chile; Cobre, Medio Ambiente y Salud Aportes de la Ciencia; Santiago de Chile, Chile, pp 56
20. Organización Mundial de la Salud, Cáncer, No. 297; publicado 2008, actualizado el 02/2012, consultado el 12/02/2012, [En línea]; <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/es/>
21. Passarge, Eberhard; (2010); Genética: Texto y atlas; Editorial Médica Panamericana; 3a ed; Madrid, España; 124-126 pp
22. Pieter C. A. Bruijninx and Peter J. Sadler; (2010); New Trends for Metal Complexes with Anticancer Activity; Curr Opin Chem Biol.; Vol 12, No 2; pp 15.
23. Pimentel Peñalosa, Emilio; Rocío Ortiz, Alda; Matilde Breña Valle; (2006) Tópicos de genética; UAEM, México, Distrito Federal, 210-230 pp
24. Quezada Ramírez, Marco Antonio; (2007) El ciclo celular, sus alteraciones en el cáncer y como es regulado en células troncales embrionarias; UAM-I, Conacto S, Vol 65, 5-12 pp.
25. Quillo Duarte, Miguel Ángel; (2011); Efecto en la inhibición de la proliferación, de los compuestos derivados del fenol LQM 319 y LQM 402, sintetizados en la FES Cuautitlán, sobre líneas celulares transformadas; Tesis de licenciatura, FES-Cuautitlán, UNAM; Cuautitlán Izcalli, Estado de México.



26. Rocha Espino, Yuriana; (2008); Estudio Genotóxico mediante la prueba de micronúcleos del compuesto tiomorfolinico LQM 319; Tesis de licenciatura, FES-Cuautitlán, UNAM; Cuautitlán Izcalli, Estado de México.
27. Sánchez Bartz, Francisco, (2006); Determinación de la capacidad genotóxica, citotóxica y citostática de las Casiopeínas I, II y III en linfocitos, medula ósea de ratón y linfocitos humanos en cultivo; Tesis de maestría, FES- Zaragoza, UNAM; México, Distrito Federal.
28. Santiago Gómez-Ruiz; (2010) Evolución y desarrollo de complejos metálicos con aplicación potencial como agentes antitumorales; Real Sociedad Española de Química; Vol. 106, No. 1, 13-21 pp.
29. Stephen R. Bolsover, Elizabeth A. Shephard, Hugh A. White, Jeremy S. Hyams; (2011); Cell Biology: A Short Course; Editorial John Wiley & Sons; 3a ed; 297-306 pp.
30. Tessler, José; Mirtas Varela, Diego Rosso; (2004); Farmacología II: Quimioterapéuticos, antineoplásicos e inmunosupresores; actualizado: 05/2012; consultado 19/02/2012. [En línea]; <http://farmacomedia.files.wordpress.com/2010/05/quimioterapicos-antineoplasicos-e-inmunosupresores.pdf>
31. Tomás M. Díaz Román, María E. Faxas García y María del C. Arango Prado, (1988); Factores etiopatogénicos y moleculares en la génesis del cáncer; Rev Cubana Oncológica 1998; Vol 14, N° 1; 42-50 pp.
32. Ulrich Welsch, Johannes Sobotta; (2009); Histología; Ed. Médica Panamericana; 2a. ed.; Madrid, España; 70-74 pp.



33. Von Bernhardt M Rommy. Mecanismos de muerte celular en las enfermedades neurodegenerativas: ¿apoptosis o necrosis?, Rev. chil. neuro-psiquiatr. 2004 Octubre; consultado 19/02/2012; Vol. 42, N° 4; pp281-292.
34. Zalacain, Díez Marta; L. Sierrasesúmaga, A. Patiño, (2005) El ensayo de micronúcleos como medida de inestabilidad genética inducida por agentes genotóxicos, An. Sist. Sanit. Navar. 2005, Vol. 28, N° 2, mayo-agosto, pp 227-237.