



UNIVERSIDAD DE JAÉN
Facultad de Ciencias Experimentales

Trabajo Fin de Grado

Complejos de platino con actividad antitumoral

Alumno: Juan Carlos Ortega Velasco

Junio, 2016



UNIVERSIDAD DE JAÉN
Facultad de Ciencias Experimentales

Trabajo Fin de Grado

Complejos de platino con actividad antitumoral

**Trabajo de Fin de Grado presentado por
Juan Carlos Ortega Velasco**

Una firma manuscrita en tinta oscura, que parece ser la del autor, Juan Carlos Ortega Velasco.

Jaén, Junio de 2016

ÍNDICE

RESUMEN	4
ABSTRACT	4
HIPÓTESIS	5
1. INTRODUCCIÓN	6
2. ESTRUCTURA DEL ADN	7
3. MODOS DE UNIÓN	9
4. COMPLEJOS DE PLATINO	11
4.1. Cisplatino	13
4.1.1. <i>Antecedentes históricos</i>	14
4.1.2. <i>Modo de acción</i>	15
4.1.3. <i>Efectos secundarios</i>	21
4.1.4. <i>Mecanismos de resistencia</i>	22
4.2 Otros complejos de platino	24
4.2.1. <i>Complejos de platino(II) con un mecanismo de acción similar al cisplatino</i>	24
4.2.2. <i>Complejos de platino(IV)</i>	27
4.2.3. <i>La próxima generación de complejos de platino basados en cisplatino</i>	31
4.2.4. <i>Complejos de platino(II) que no se unen de forma covalente AL ADN</i>	34
4.2.5. <i>Complejos de platino(II) monofuncionales</i>	35
4.2.6. <i>Complejos de platino(IV) activados por luz</i>	36
4.3. Nanoliberación de complejos de platino(IV)	37
4.4. Nanoliberación de complejos de platino(II)	40
5. BIBLIOGRAFÍA	42

RESUMEN

Los compuestos anticancerígenos de platino representan uno de los grandes éxitos en el campo de la química médica inorgánica y su elaboración ha estado marcada por la confluencia entre la casualidad y el diseño racional de su desarrollo.

A pesar de que los complejos de platino fueron introducidos en el mercado hace casi 40 años, éstos continúan siendo los principales agentes anticancerígenos.

En esta revisión se estudia la evolución que han tenido los distintos complejos de platino a lo largo del tiempo y, de manera más extensa, los modos de acción que poseen los principales complejos, además de sus efectos secundarios y la resistencia que el organismo muestra frente a ellos. Por último, la nanotecnología está influyendo en los tratamientos en los que intervienen este tipo de compuestos y el papel que juega.

ABSTRACT

Anticancer platinum compounds represent one of the great successes in the field of inorganic medicinal chemistry and their production has been marked by the confluence of chance and the rational design of their development.

Although platinum complexes were introduced in the market nearly 40 years ago, these remain the major anticancer agents.

In this review, it is studied the developments that have taken different platinum complexes over time and, broadly, the mechanisms of action that the main complexes have, as well as, their side effects and the resistance that organisms show against them sometimes.

Finally, nanotechnology is influencing the treatments in which these compounds are involved.

HIPÓTESIS

Los complejos anticancerígenos de platino dominan el campo de los metales en la quimioterapia desde que en 1978 fuese aprobado el cisplatino. Más de 4000 complejos de platino se han testado como fármacos anticancerígenos, sin embargo, sólo se han aprobado a nivel mundial, además del cisplatino, el carboplatino (1989) y el oxaliplatino (2002).

La importancia de estos compuestos a nivel farmacológico ha hecho que nos planteemos hacer una revisión a nivel bibliográfico para estudiar las características de los compuestos utilizados a nivel clínico (estructura, los modos de unión de estos compuestos a los ácidos nucleicos, la toxicidad, los efectos secundarios y los fenómenos de resistencia). Además, se indican diferentes vías de investigación basadas en la síntesis de complejos de platino más efectivos y seguros que los que hay en uso, que se están desarrollando en la actualidad y que se centran tanto en el diseño de compuestos que operan mediante mecanismos de acción diferentes al de los fármacos aprobados como en el uso de sistemas que transporten el fármaco hasta las células tumorales basados en el uso de polímeros o materiales inorgánicos que dan lugar a sistemas tales como micelas, liposomas y nanopartículas.

1. INTRODUCCIÓN

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 2012 se estima que se produjeron 14,1 millones de casos de cáncer en todo el mundo. Los más comunes son los de pulmón, mama, intestino y próstata. Estos son los tipos sufridos por 4 de cada 10 cánceres diagnosticados. En 2012, también se estima que 8,2 millones de personas murieron de cáncer.

El cáncer es una enfermedad resultante del ADN defectuoso, debido a las mutaciones que originan que las células abandonen su desarrollo normal y pasen a ser cancerígenas, transmitiendo esta información a las células hijas. De hecho, lo que ocurre cuando una célula pasa a ser cancerígena, es que deja de lado aquellas cuales fueren sus funciones y sólo y exclusivamente se divide. Se cree que “la conversión de una célula en cancerosa, se debe al menos a dos mutaciones genéticas” (Kostova, I., 2006).

El resultado del crecimiento descontrolado de una o varias células cancerígenas puede desembocar en la muerte del individuo si no es tratado, de aquí la importancia que se le da a la metástasis. La radioterapia y la cirugía son soluciones eficientes contra los tumores en las primeras etapas de desarrollo, sin embargo, la aparición de metástasis, desemboca casi de manera inevitable en la muerte de aquél que la padece. Para combatir la dispersa localización de la metástasis se está haciendo hincapié en un tratamiento distinto a los ya nombrados a través de fármacos.

En la actualidad, el desarrollo de fármacos que actúen de manera eficiente contra el cáncer y que sean específicos para las células cancerígenas es una de las prioridades en la investigación científica y médica. A lo largo de la memoria se irá estudiando en detalle los diferentes compuestos de platino que se están utilizando.

Uno de los compuestos más utilizados es el cisplatino (cis-diamindicloroplatino (II)) que se introdujo por primera vez en los años 70 y que aún es uno de los agentes más utilizados en quimioterapia. Así el cisplatino, (cisdiaminocloroplatino) se emplea en el tratamiento de cáncer de pulmón, testículos, ovarios, vejiga, cuello, cabeza, bazo y cervix (Jung, Y. *et col.* 2007). El uso del cisplatino ha favorecido la investigación de compuestos de platino con eficacia mejorada.

2. ESTRUCTURA DEL ADN

Como todos sabemos el ADN es la biblioteca de la vida, puesto que almacena toda la información genética de sucesos pasados y nos hace ser lo que somos. Además su función, también es muy importante la estructura que éste adopta (no siempre es la misma), pues varía en función de unas circunstancias particulares e incluso según las especies.

Puesto que los tumores se caracterizan por un aumento incontrolado de la proliferación celular, el ADN suele ser la diana de los fármacos antitumorales. La eficacia de estos fármacos dependerá no sólo del compuesto, sino de la estructura que el propio ADN tiene. Por eso es importante saber las distintas conformaciones que puede establecer el ADN.

La unidad mínima del ADN conocida como nucleótido está constituida un carbohidrato de cinco miembros llamado desoxiribosa que se une a través del átomo C1' a una base heterocíclica que puede ser adenina (A), guanina (G), timina (T) o citosina (C); y a través del átomo C5' a un grupo fosfato. Los nucleótidos se unen entre sí para formar largas cadenas de polinucleótidos; la unión entre monómeros nucleótidos se realiza mediante enlaces fosfodiéster entre los carbonos de las posiciones 3' de un nucleótido con la 5' del siguiente. De acuerdo con esto, la polimerización de nucleótidos da lugar a que la cadena crezca de manera lineal, formando una cadena monocatenaria polianiónica con dirección definida (tradicionalmente descrita en dirección 5'-3') que constituye la estructura primaria del ácido nucleico.

El ADN adopta una estructura de doble hélice en su estructura secundaria. Las dos cadenas se unen mediante enlaces de hidrógeno formados entre bases de las cadenas opuestas. Los enlaces de hidrógeno más comunes implican G-C y A-T. La estabilidad general de la doble hélice además se mantiene por interacciones π - π stacking que se producen entre los anillos aromáticos hidrófobos de bases adyacentes de las cadenas de polinucleótidos. Esta estructura forma dos hendiduras llamadas mayor y menor. La mayor es estrecha y profunda mientras que la menor es más ancha y superficial (Hunter, C.A. *et col.* 2001; Sriram, M. *et col.* 1996). El ADN puede existir en varias conformaciones que están influenciadas por factores ambientales (hidratación y fuerza iónica) y la estructura primaria del polinucleótido.

Se clasifican en las formas: A, B, C, D, y Z. Bajo condiciones fisiológicas la predominante es la B.

- ADN A: Este tipo de ADN se da en condiciones de escasa humedad y baja temperatura. Es una hélice dextrógira con 11 residuos por vuelta con una distancia entre bases pequeñas de 2'25 Å y un diámetro de 23 Å, posee un surco mayor y un surco menor amplio. Por tanto, presenta una estructura más compacta con un núcleo hueco (figura 1).
- ADN B: El sentido de la hélice es también a la derecha. Posee 10'5 residuos de bases nucleotídicas por vuelta completa. La separación entre las bases es de 3'4 Å y presenta un diámetro de hélice de 20 Å. La hendidura menor es de 4'8 Å, mientras que la mayor es de 10'5 Å (figura 1).
- ADN C y D: Son alomorfos, ambos son parecidos a la forma B, pero con más giros de hélice. Se obtienen con iones Li(I) y Na(I) en condiciones de hidratación bajas. Poseen una distancia entre bases de 3'31 Å y 3'05 Å, respectivamente (figura 1).
- ADN Z: Esta conformación se adopta en condiciones de alta salinidad y se caracteriza por poseer una conformación levógira (sentido hacia la izquierda). En esta forma, la hélice es más alargada y elongada (18 Å de diámetro) y además posee 12 residuos por vuelta adoptando los residuos azúcares-fosfato una forma zig-zag (figura 1).

El ADN puede adoptar otras conformaciones como horquillas que han sido identificadas en el ADN genómico, estructuras con forma cruciforme o tetraplex (G-cuádruplex y i-motif):

- Estructura G-cuádruplex: Las secuencias ricas en guanina pueden dar lugar a estructuras G-cuádruplex. Cuatro bases guanina forman unidades con superficie plana que se apilan una sobre otra (figura 1).
- Estructura i-motif: Se forma a partir de una cadena rica en citosina a un pH ligeramente ácido o incluso neutro. Las secuencias ricas en citosina están presentes en zonas regulatorias de >40% de todos los genes, especialmente en la zona precursora del oncogén y ADN telomérico humano. Las estructuras

i-motif se van a ver muy afectadas por los materiales que interaccionan con las cadenas de ADN (figura 1).

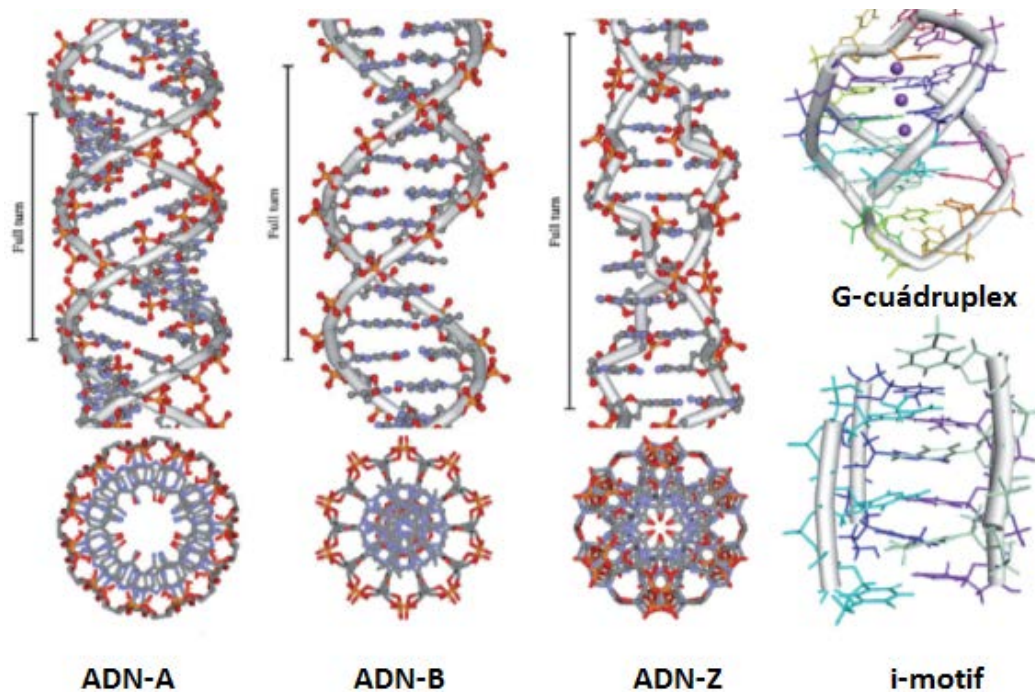


Figura 1. Distintas conformaciones adoptadas por el ADN.

3. MODOS DE UNIÓN

Debido a su tamaño y complejidad, el ADN ofrece muchos tamaños y lugares potenciales para interacciones con compuestos de coordinación.

Los fármacos se van a unir al ADN mediante dos vías principales: la irreversible y la reversible.

- Vía irreversible (enlace covalente o coordinado). Los compuestos de coordinación pueden mostrar preferencia por un modo de unión o por una secuencia de nucleótidos dependiendo del tamaño y la forma de la molécula. Por ejemplo, en el caso del cisplatino se forman aductos por coordinación del átomo de Pt al nitrógeno N7 de la guanina.
- Vía reversible (asociaciones intermoleculares). Esta vía puede dividirse en interacciones electrostáticas, unión con las hendiduras e intercalación.

- o **Interacciones electrostáticas:** Son debidas a la interacción entre los cationes de los complejos metálicos con la carga negativa del grupo fosfato que queda en la parte exterior de la cadena de ADN.
- o **Unión por hendidura:** Las moléculas normalmente llegan al ADN a través de una de las hendiduras y reaccionan tanto con el esqueleto como con las nucleobases. Por ejemplo, hay complejos que pueden interaccionar tanto con el surco mayor como con el surco menor debido a las características del propio complejo metálico, como por el ejemplo, la forma, el tamaño, el potencial que posee para establecer enlaces de hidrógeno, la polarizabilidad de los ligandos y la carga.
- o **Intercalación:** En este caso lo que ocurre es la inserción de sistemas aromáticos policíclicos entre pares de bases del ADN apiladas, lo que aumenta la separación entre los pares de bases adyacentes a los que se une, causando una distorsión en la doble hélice que se compensa con ajustes en el esqueleto azúcar-fosfato, generalmente con un desenrollamiento de la doble hélice (figura 2). Esta interacción se estabiliza por el solapamiento de nubes π del intercalador y las nucleobases cercanas. El hecho de que la molécula que interactúe con el ADN lleve un centro metálico permite una mayor diversidad geométrica y flexibilidad estructural que la que puede lograr cualquier compuesto exclusivamente orgánico.

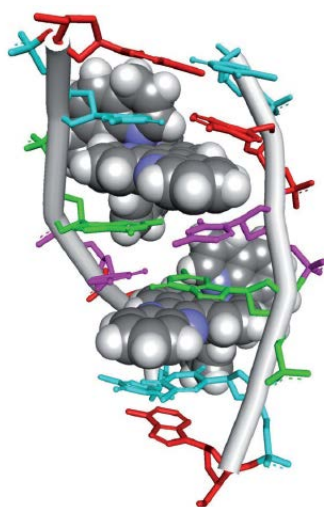


Figura 2. Unión mediante intercalación del compuesto al ADN.

4. COMPLEJOS DE PLATINO

Los complejos de platino se usan, hoy día, como auxiliares en las terapias que tienen como objetivo inducir la muerte en las células tumorales (figura 3). La acción del cisplatino depende de la concentración de éste y del tipo de célula sobre la que actúe, pudiendo intervenir en la transcripción o replicación del ADN o en la inducción de la apoptosis en determinadas células. Además, el centro metálico de Pt(II) puede unirse (principalmente a través de los grupos tiol) a otras biomoléculas como las proteínas del torrente sanguíneo (albúmina, transferrina, hemoglobina), los fosfolípidos de las membranas celulares, los aminoácidos cisteína y metionina, el oligopéptido glutatión (GSH) o las metalotioneínas (MTs). Entre las consecuencias más importantes de la formación de estos complejos Pt-biomolécula cabe destacar la resistencia al tratamiento debida al desarrollo de mecanismos de destoxificación por la reacción con MTs o GSH, así como los efectos tóxicos que aparecen durante el tratamiento (el principal y más limitante es la nefrotoxicidad), por lo que, a pesar de la potente actividad antitumoral del cisplatino, su uso clínico está limitado (Gómez M.M *et col.* 2012).

La búsqueda de nuevos compuestos de platino está más centrada en aquellos con geometría *cis* porque los que poseen la geometría *trans* son inactivos o, en su defecto, son mucho menos activos (Florea, A.M., *et col.* 2011; Kelland. L.I., 2007). En la tabla 1 podemos observar algunos de los complejos de platino diseñados a partir del cisplatino que también han sido aprobados para su uso a nivel clínico.

Tabla 1. Aprobación clínica de algunos compuestos de platino con actividad antitumoral.

Nombre Genérico	Año de aprobación	Ámbito de Aprobación
Cisplatino	1978	Global
Carboplatino	1989	Global
Oxaliplatino	2002	Global
Nedaplatino	1995	Japón
Heptaplatino	1999	Corea
Lobaplatino	2010	China

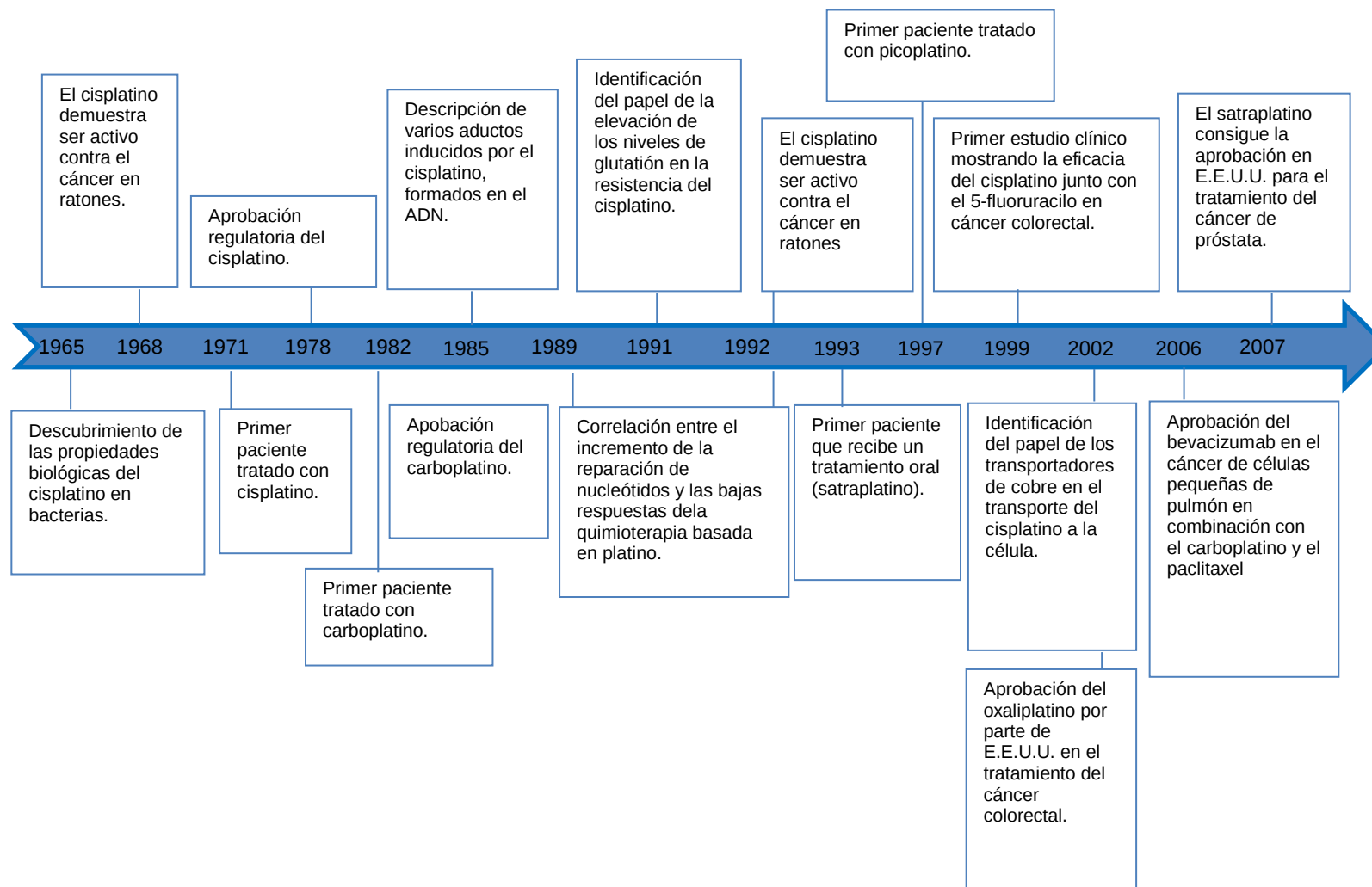


Figura 3. Avances en el desarrollo de los compuestos de platino como agentes antitumorales.

4.1. Cisplatino

El *cis*-diaminodicloroplatino(II) (cisplatino, CDDP) es uno de los agentes quimioterapéuticos más potentes usados para el tratamiento de cáncer. Presenta un amplio espectro de acción antitumoral (figura 4), siendo eficiente contra el cáncer testicular, el de ovarios, linfomas, melanomas... etc. Como contrapartida, el tratamiento con este compuesto está acompañado de efectos tóxicos para el organismo en general que puede dar lugar a efectos secundarios malignos (Floreal, A.M., 2011).

La pobre biodisponibilidad que presenta el cisplatino al administrarse de manera oral, genera la necesidad de administrar el fármaco como una infusión intravenosa, teniendo en consideración la necesidad de proporcionarle al paciente una extensiva hidratación antes, durante y después de su administración, con el objetivo de reducir la toxicidad renal. En la actualidad, son bien conocidos los efectos secundarios que provoca en los pacientes la terapia con este quimioterapéutico, como por ejemplo, la toxicidad renal, gastrointestinal y la neurotoxicidad que incluye neuropatía periférica y afección de la capacidad auditiva. Algunos de estos efectos secundarios son irreversibles para el paciente, mientras otros pueden desaparecer con ayuda de agentes quimioprotectores, principalmente que presenten grupos sulfuro libres, los cuales al unirse de manera irreversible al platino, reducen las formas activas del fármaco en medio acuoso.

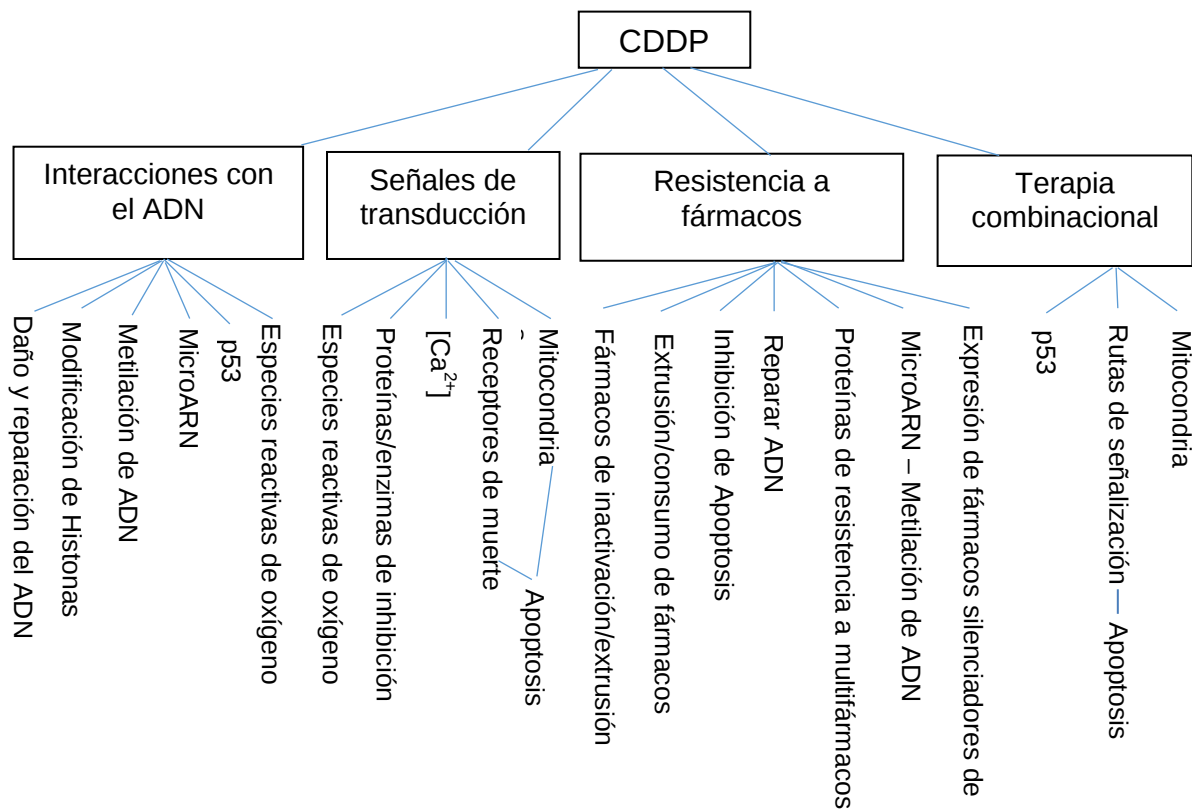


Figura 4. Distintos objetivos del cisplatino.

4.1.1. Antecedentes históricos

El CDDP fue sintetizado por primera vez en 1845 y su estructura fue descubierta en 1893 por Alfred Werner (Desoize, B., *et al.* 2002) (figura 5). Posteriormente en 1960, Rosenberg y su grupo de investigación realizaron el descubrimiento de la función antitumoral de este compuesto (Rosenberg, B. *et al.* 1969), de manera accidental.

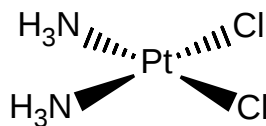


Figura 5. Estructura del cisplatino.

Rosenberg estaba interesado en la aplicación de la radiación electromagnética en bacterias y células de mamíferos para investigar si los dipolos magnéticos o eléctricos estaban envueltos en la división celular. En los primeros experimentos con bacterias observó que cuando utilizaba los electrodos de platino las bacterias

aparecían como filamentos mucho más largos de lo que son en realidad. Este efecto se debía más a los electrodos de platino que al campo eléctrico. Se analizaron los compuestos y se observaron que los causantes de este efecto biológico eran: un *cis*-isómero neutro $[\text{Pt}^{\text{II}}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$, que terminó siendo el cisplatino; y el *cis*-diaminotetracloroplatino(IV) (Chen. D. *et col.* 2009; Kelland, LI., 2007).

En 1971 fue testado por primera vez en un paciente (Lebwohl, D. *et col.* 1998) y estuvo disponible para su uso clínico en 1978.

4.1.2. Modo de acción

Al principio se pensó que el cisplatino entraba en la célula por difusión pasiva. Sin embargo, hay estudios recientes que demuestran que hay una relación directa entre el transporte de cobre y la concentración de cisplatino en la célula, estando implicado un transportador de cobre (CTR1) (Lin X. *et col.* 2002; Wang, D. *et col.* 2005).

En la célula el cisplatino actúa como un agente alquilante bifuncional sobre el ADN. Debido a la baja concentración de iones Cl^- , el cisplatino reacciona con H_2O o grupos hidroxilo dando lugar a *cis*- $[\text{PtCl}(\text{H}_2\text{O})(\text{NH}_3)_2]^+$ y *cis*- $[\text{Pt}(\text{H}_2\text{O})_2(\text{NH}_3)_2]^{2+}$ (figura 6).

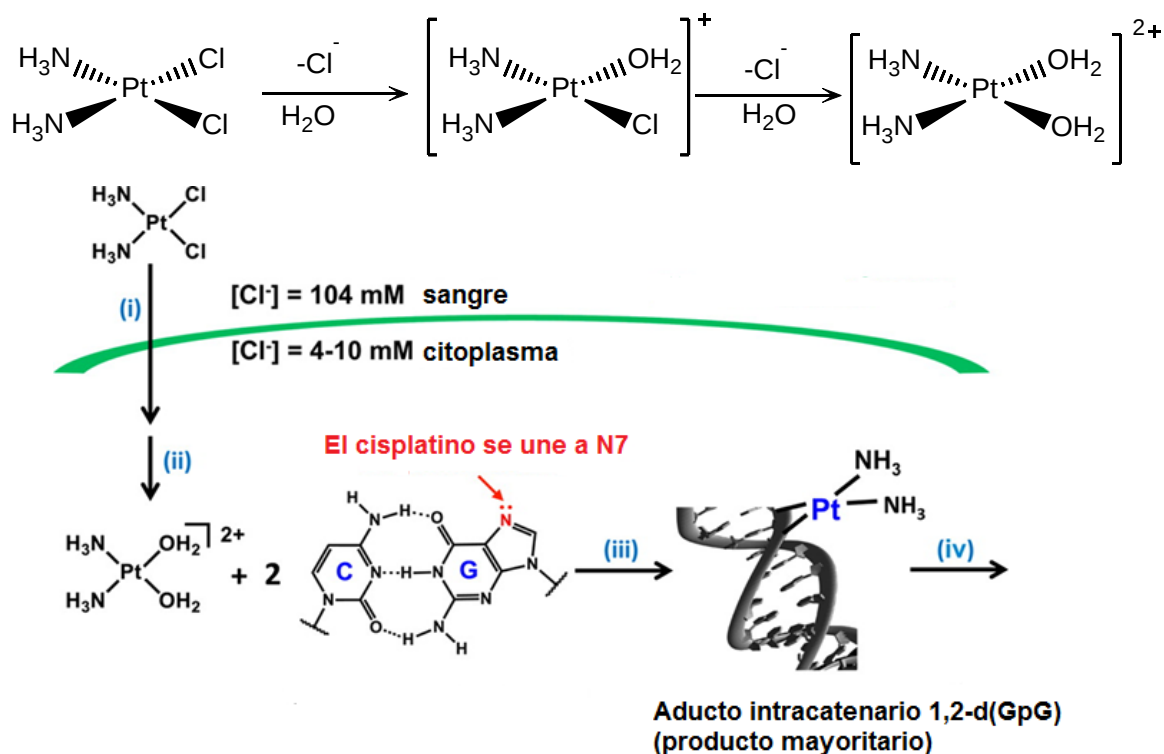


Figura 6. Cambios que se producen en el cisplatino cuando penetra en la célula.

Estos compuestos pueden unirse al ADN mediante un enlace covalente para crear aductos Pt-ADN (Caradonna, J.P. *et col.* 1982). Los aductos que se forman predominantemente son entrecruzamientos intracatenarios guanina (GG) a través de la coordinación del platino al átomo de nitrógeno N7 de la guanina (figura 7).

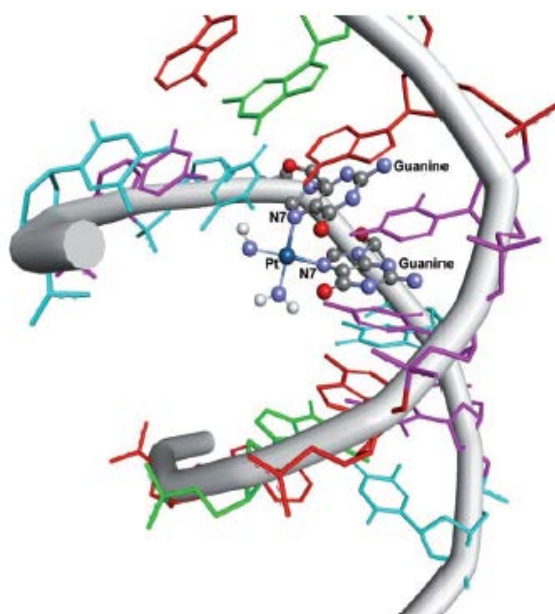


Figura 7. Unión del cisplatino al ADN.

El cisplatino forma aproximadamente el 60-65% intracatenario GG, 25-30% intracatenario AG, 5-10% intracatenario GNG, 1-3% diaductos intercatenarios GG (figura 8). Esto crea también aductos Pt-ADN entre ADN y proteínas. Los aductos bifuncionales, que pueden tomar la forma de un entrecruzamiento intra o intercatenario, pueden causar una mayor distorsión local de la estructura del ADN. Aunque los entrecruzamientos están asociados a con pocas lesiones de cisplatino, varios estudios han demostrado que pueden ser los responsables de la citotoxicidad del fármaco (Wozniak, K. *et col.* 2002). El cisplatino además reacciona de inmediato con otros elementos celulares como las proteínas, el ARN y otras moléculas. Las partes inactivas resultantes, son envueltas en pequeñas moléculas tioles como el glutatión, cisteína o metionina y entonces participan en la detoxificación del cisplatino. Esta es la principal razón por la que sólo un 1% del cisplatino reacciona con el ADN nuclear. En los aductos intermoleculares, como los que se forman entre las proteínas el ADN y el cisplatino, las lesiones que se producen son las que dan lugar al bloqueo de la replicación y de la división celular y a la activación de la

apoptosis (Bravec, V., 2005; Roberts, J.J. *et col.* 1986). Dicha activación se produce al impedir la acción de la ADN polimerasa en los sitios donde se forman los aductos, cortando su progresión (Cruet-Hennequart, S. *et col.* 2008; Jung, Y. *et col.* 2006).

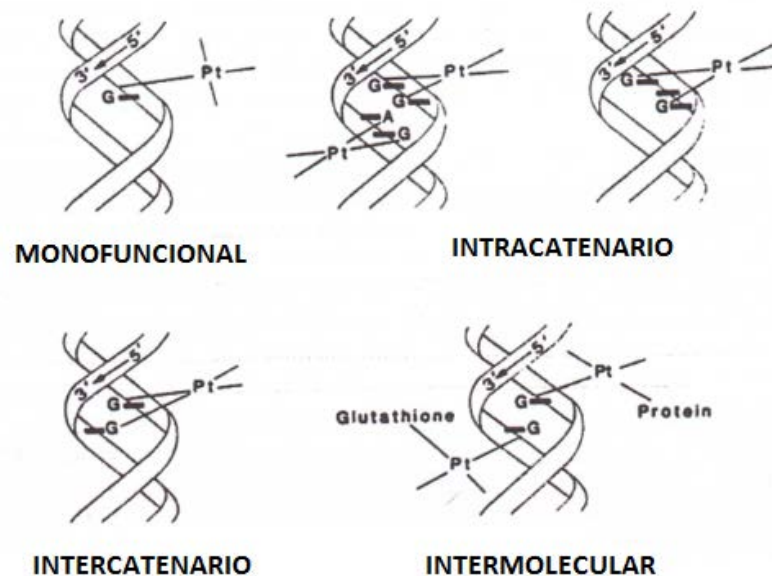


Figura 8. Distintos aductos que puede formar el cisplatino.

Según lo que hemos visto hasta el momento, el cisplatino induce la citotoxicidad por interferencia con la transcripción y/o el mecanismo de replicación del ADN. Además, el cisplatino daña los tumores mediante la inducción de la apoptosis mediada por la activación de varias rutas de transducción de señales, incluyendo la señalización de calcio, la señalización del receptor de muerte y la activación de rutas a través de la mitocondria. Vamos a estudiar en más profundidad estos aspectos.

El objetivo principal del CDDP es inducir la muerte en las células tumorales a través de distintos mecanismos. La exposición al estrés oxidativo puede alterar las funciones biológicas normales. Además del daño producido al ADN, datos recientes indican que el cisplatino también induce la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS) que ocasionan la muerte celular. La formación de ROS depende de la concentración de CDDP y del tiempo de exposición (Brozovic, A. *et col.* 2010). El centro metálico de platino va a interaccionar con átomos dadores de proteínas, particularmente, átomos de azufre y selenio, como demuestra el hecho de que menos del 1% del cisplatino administrado vía intravenosa llega al ADN. Este hecho altera la homeostasis redox intracelular (ya que ésta se mantiene debido a las

moléculas con grupos tioles –SH) incrementándose los niveles de ROS intracelular (Desoize, B. *et col.* 2002).

Apoptosis extrínseca

La terapia del cáncer tiene como objetivo inducir de manera directa la muerte celular a través de la activación de rutas de transducción de señales mediadas por receptores TRAIL (factor de necrosis tumoral relacionado con la apoptosis inducida por ligandos) (Florea A.M. *et col.* 2011). Esto es lo que se conoce como apoptosis extrínseca.

TRAIL se expresa en el sistema inmune de los humanos y desarrolla un papel crucial en la actividad antitumoral, ya que se ha comprobado que induce la apoptosis de manera selectiva en las células tumorales, tanto *in vitro* como *in vivo*, pero no así en la mayoría de las células “normales” (Shamini-Noori, S. *et col.* 2008; Wenger, T. *et col.* 2006). Para llevar a cabo su acción TRAIL se une a los receptores de muerte (DR4 y DR5) y activa las rutas de apoptosis intracelular. La susceptibilidad de las células cancerígenas a TRAIL se aumenta con el CDDP (Shamini-Noori, S. *et col.* 2008).

Apoptosis Intrínseca

• Mitocondria

La mitocondria es el orgánulo que suministra energía a la célula y el funcionamiento anormal de éste está relacionado con diversas patologías, entre ellas el cáncer (Florea, A.M. *et col.* 2011). Además de esto, la mitocondria es una fuente importante de mediadores de apoptosis.

Para lograr que la mitocondria cause apoptosis selectivamente a las células cancerígenas, hay que hacer que una serie de compuestos interfieran en la actividad de ésta y cambie su función (Ralph, S.J. *et col.* 2009).

La permeabilización de la membrana mitocondrial (MMP), está asociada con la apoptosis y puede ocurrir por la vía del control de los miembros de la familia de los Bcl-2 proapoptóticos, y/o por la inducción de la transición de la permeabilidad mitocondrial. Este tipo de muerte inducido por mecanismos regulatorios responde al estado redox de la mitocondria. Además de inducir MMP, los agentes

quimiopreventivos pueden modular el estado energético y/o redox de la mitocondria, lo que puede ser un importante paso para quimioprevención del cáncer (Hail, N. *et col.* 2009).

El problema es que existe poca información acerca de la interacción del CDDP y la mitocondria. Quedan por aclarar algunas cuestiones, como por ejemplo, si la densidad mitocondrial de las células y la sensibilidad citotóxica del CDDP es un factor clave para la determinación de la actividad anticancerígena y los efectos secundarios del cisplatino (Qian, W. *et col.* 2005).

• **Proteína supresora de tumores p53**

Las mutaciones en el gen supresor de tumores TP53 son las alteraciones más frecuentes en los cánceres humanos. La mayoría de estas alteraciones son mutaciones sin sentido que se unen a los dominios del ADN. Pero también esas mutaciones generan proteínas p53 que adquieren nuevas propiedades bioquímicas y biológicas que pueden llegar a contribuir a la aparición de tumores malignos. La inhibición de la expresión del mutante p53 mediante la interferencia del ARN endógeno que expresa proteínas p53 mutantes reduce la proliferación de la célula, la tumorigenicidad, tanto *in vivo* como *in vitro*, y la resistencia a los fármacos anticancerígenos (Bossi, G. *et col.* 2009).

La proteína represora de tumores p53 está relacionada con sensibilidad del cáncer al CDDP (Park, C.M. *et col.* 2006; Karger, A.G. *et col.* 2005). El gen de p53 inducible por la terapia con cisplatino puede proporcionar control sobre la expresión génica al mismo tiempo que se mejora la eficacia de los agentes quimioterapéuticos utilizados comúnmente (Wang, H. *et col.* 2006). Esta proteína puede ejercer control sobre el ADN porque puede reconocerlo cuando está modificado por el CDDP. En otros estudios se observó como la proteína p53 se unía con mayor afinidad al ADN marcado con CDDP que al ADN sin modificar (Pivonkova, H. *et col.* 2006).

• **Intervenciones epigénéticas**

En cuanto a lo que concierne a las intervenciones epigenéticas hay menos evidencias en lo que se refiere a las inducciones promovidas por el CDDP.

Las modificaciones post-translacionales de las histonas altera la estructura de la cromatina, facilitando la unión de los factores nucleares que median en la reparación del ADN, en su transcripción y en otros procesos. Se estudiaron los efectos del tratamiento con el CDDP en las células cancerígenas que han sufrido modificaciones post-translacionales en sus histonas y se observó que la fosforilación específica de la histona H3 en su residuo de serina-10, fue inducida por acción del CDDP. El tratamiento con fármacos también causa la hiperacetilación de las histonas. Estos hechos revelan que hay una relación entre la administración de CDDP y las alteraciones cromosómicas estructurales, lo que arroja información sobre cómo responden las células al estrés inducido por el platino (Wang, D. *et col.* 2004). Como ejemplo se puede indicar que el CDDP demostró en experimentos realizados con cerdos que las histonas se modificaban, desacetilándose. Estas histonas desacetiladas demostraron ser agentes inhibidores del cáncer con muy pocos efectos secundarios, convirtiéndose en un objetivo de ensayo clínico relacionado con la quimioterapia del CDDP (Drottar, M. *et col.* 2006).

Los microARNs también están relacionados con las intervenciones epigenéticas. Son pequeñas moléculas de ARN que se producen en el interior de las células, no codifican, pero tienen una gran importancia, ya que actúan como reguladores tanto en la tumorigénesis como en su desarrollo (Bhatt, K. *et col.* 2010). Hay estudios que han demostrado la inducción de la apoptosis en determinadas células a través del control que el CDDP ejerce sobre algunos microARNs y la expresión de la proteína p53, regulada a su vez por éstos (Bhatt, K. *et col.* 2010).

• Señalización de calcio

Por último el CDDP también interfiere en la homeostasis del calcio. El calcio intracelular está estrictamente regulado por el balance entre el calcio entrante y los mecanismos de transporte activo que transportan el calcio en contra del gradiente de concentración. Según demuestran algunos estudios realizados en modelos *in vitro* (Florea, A.M. *et col.* 2006; Splettstoesser, F. *et col.* 2007; Tomaszewski, A. *et col.* 2007), el CDDP aumenta la concentración de Ca^{2+} intracelular en determinados tipos de células lo que está relacionado con la activación de la calpaína que son las enzimas responsables de la proteólisis calcio-dependiente.

4.1.3. Efectos secundarios

A pesar de los múltiples efectos positivos y del amplio rango anticancerígeno que poseen los complejos de platino en general y el cisplatino en particular, todos ellos han demostrado tener efectos secundarios sobre nuestro organismo: desde mareos y vómitos hasta daños celulares, inmunosupresión, mielosupresión, nefrotoxicidad, cardiotoxicidad, pérdida de audición... Por este motivo, se suele administrar con fármacos que permitan disminuir los efectos adversos que puedan llegar a producir.

- Nefrotoxicidad (Nomekov, G. *et col.* 2006)

Se ha observado que el uso clínico temprano del cisplatino causa insuficiencia renal aguda inducida en función de la dosis acumulativa (Hartmann, J.T. *et col.* 1999), tal y como revela el aumento en las concentraciones de creatinina sérica y de nitrógeno úrico en sangre. Aunque la producción de orina se conserve, ésta puede contener glucosa y pequeñas concentraciones de proteína, indicativo de disfunción tubular proximal (Ronald, P. *et col.* 2010).

Además se ha observado que en ratas el CDDP causa fallo renal agudo y altera la regulación del citocromo hepático P450 (Masubuchi, Y. *et col.* 2006).

- Cardiotoxicidad

El hecho de combinar la quimioterapia antineoplásica y el CDDP da lugar a alteraciones en el electrocardiograma, incluyendo la prolongación del intervalo QT y emesis de diferentes grados, no siendo posible aplicar junto con estos compuestos un antiemético, debido a que tendría efectos sinérgicos en el intervalo QT (Keller, G.A. *et col.* 2010).

- Hepatotoxicidad

Aunque raramente se caracteriza al CDDP como hepatotóxico, en ciertos estudios realizados en ratas, se ha observado que este compuesto incrementa la peroxidación de los lípidos y altera el nivel de tior de tejidos con alteraciones concomitantes en los enzimas antioxidantes. Además de esto se ven alterados determinados enzimas después de la terapia con el CDDP como la glutatión reductasa, su homóloga peroxidasa y la gamma-glutamil

transpeptidasa y catalasa. La única que no presenta cambios en su concentración es la glutatión transferasa (Florea, A.M. *et col.* 2011).

4.1.4. Mecanismos de resistencia

La resistencia al fármaco es el mayor problema que podemos encontrar en el tratamiento quimioterapéutico del cáncer. La resistencia tiene lugar cuando el organismo no responde al tratamiento y puede ocurrir de dos formas:

- Resistencia adquirida: Se da cuando el fármaco funciona al comienzo del tratamiento, pero termina siendo inútil frente a las células tumorales.
- Resistencia intrínseca: Esta se produce cuando el individuo es inmune al tratamiento desde el principio.

A pesar de que se ha comprobado que el CDDP es un fármaco muy eficaz frente a varios tipos de cáncer el riesgo de resistencia existe. En este caso se debe aumentar la dosis (Brabec, V. *et col.* 2005), pero una gran dosis puede conducir a toxicidades severas en algunos órganos.

Hay diversos mecanismos involucrados en la resistencia a fármacos por parte del CDDP, entre ellos se incluyen: disminución de la acumulación intracelular del fármaco y/o incremento de la excreción de éste, inactivación del fármaco por incremento de los niveles de tiol intracelulares, alteraciones en el objetivo del cisplatino... (Sedletska, Y. *et col.* 2005; Brabec, V. *et col.* 2005; Kartalou, M. *et col.* 2001). Esto produce que una variación de la interacción fármaco-ADN que termina por reducir la inducción a la apoptosis que el CDDP produce.

Si el CDDP no puede mantenerse en el interior de la célula, no podrá unirse al ADN e inducir la apoptosis y las células cancerígenas supervivientes desarrollaran mecanismo que permitan mantener fuera de la célula el cisplatino, o en todo caso, expulsarlo de su interior. De hecho, concentraciones reducidas de cisplatino en células tumorales consiguen que estas adquieran resistencia al fármaco (Brabec, V. *et col.* 2005; Florea, A.M. *et col.* 2011; Torigoe, T. *et col.* 2005).

El cisplatino abandona la célula impulsado por el aparato de Golgi (Gabianni, C. *et col.* 2008) y a través de los transportadores de cobre ATP7A y B (Katano, K. *et col.* 2004; Samini, G. *et col.* 2004). Se cree que además de excretarlo estas

proteínas pueden secuestrarlo del ADN objetivo (Kuo, M.T. *et col.* 2007; Safei. R. 2006) (figura 9).

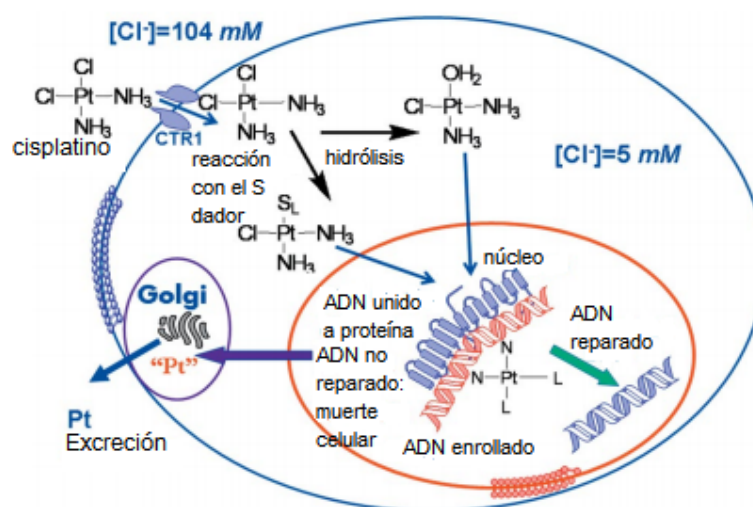


Figura 9. Representación simplificada de la entrada y salida del cisplatino de la célula.

En los mecanismos de resistencia al cisplatino por parte de las células también influyen las proteínas supresoras de tumores p53 y p73 y la oncoproteína c-Myh, que se encarga de la transcripción de determinados factores (Torigoe, T. *et col.* 2005). Y no sólo las proteínas juegan un papel crucial aquí, sino que los propios oncogenes, a través de una alteración de sus factores de transcripción están implicados en la resistencia al fármaco (Kartalou, M. *et col.* 2001).

Por otro lado, en algunos casos, la disminución de la concentración intracelular del fármaco, produce un aumento de la secreción de éste al exterior de la célula o un aumento de la inactivación del mismo, causada por las moléculas sulfhidrilo, como el glutatión, que causan la resistencia al cisplatino. Además de esto, un incremento de la escisión de los aductos formados en el ADN por las vías de reparación o un incremento de las lesiones pueden derivar en resistencia (Kartalou, M. *et col.* 2001).

En otros casos, la resistencia se debe a otras rutas alternativas en las que las células se vuelven resistentes al cisplatino debido la presencia de unas proteínas reparadoras con gran habilidad para escindir los aductos de ADN-cisplatino y reparar las lesiones causadas por él (Torigoe, T. *et col.* 2005; Wang, Z.H. *et col.* 2004).

Las modificaciones epigenéticas, según han demostrado recientes estudios, también podrían ser otro mecanismo importante de resistencia (Raymond. E., *et col.*

2002), en este caso, debido a la metilación del ADN, como ya se ha visto en algunos ensayos *in vitro* (Qiu, Y.Y. *et col.* 2005).

Por último, también parece ser que en los mecanismos de resistencia también intervienen los MicroARN. En algunos estudios se han determinado que la variación en la expresión de determinados MicroARN, causan un aumento de la resistencia al cisplatino, como por ejemplo en el adenocarcinoma. Esto se debe a que estos microARNs están involucrados en la señalización, supervivencia celular, metilación del ADN e invasividad; factores que, como hemos observado en algunos casos, están íntimamente relacionados con la resistencia al cisplatino (Pogribny, I.P. *et col.* 2010).

4.2. Otros complejos de platino

Debido a los problemas de resistencia y toxicidad que genera el cisplatino, se sigue estudiando nuevos compuestos de platino que tengan los mismos efectos positivos del cisplatino, pero que sus efectos negativos no sean tan notables (Muhammad, N. 2014; Arnesano, F. 2015).

4.2.1. Complejos de platino(II) con un mecanismo de acción similar al cisplatino

•Carboplatino

Además del cisplatino, años después se sintetizó el carboplatino $[Pt(cbdca)(NH_3)_2]$ (figura 10), segunda generación de compuestos donde se cambiaban los iones cloruro por otros átomos, en concreto, los átomos de oxígeno de una molécula 1,1-dicarboxilato-ciclobutano (cbdca). Su uso a nivel clínico comenzó a mediados de 1980 (Johnstone, T.C. *et col.* 2016).

El éxito del carboplatino reside en la hipótesis de que un grupo saliente más estable que el ion cloruro puede conducir a una menor toxicidad sin afectar a su eficacia antitumoral (Alberts, D. *et col.* 1998). Esto conduce a la alteración de la reactividad del metal debido a naturaleza quelante del grupo ligando saliente y, potencialmente, de la conformación que este adquiere (Johnstone, T.C. *et col.* 2015; Dabrouiak, J.C. 2009).

El carboplatino ha sido usado principalmente para tratar el cáncer de ovario, aunque también se le ha encontrado utilidad para el tratamiento de retinoblastomas,

nfibroblastomas, neuroblastomas, y tumores cerebrales, así como cáncer de endometrio y cérvix (U.S. National Library of medicine, 2015).

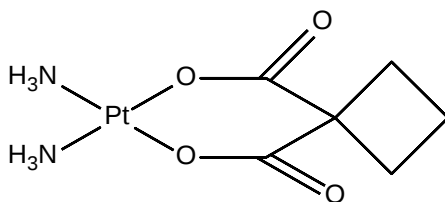


Figura 10. Estructura del carboplatino (2ª generación).

•Oxaliplatino

Este complejo está basado en el ligando 1,2-diaminociclohexano (DACH) y se describió originalmente a finales de 1970 (figura 11). Este compuesto, también llamado I-OHP, es el fármaco más reciente que ha obtenido aprobación internacional para su comercialización (Graham, J. *et col.* 2004).

Desde 1999 se ha utilizado en combinación con 5-fluoruracilo o el leucovorin para el tratamiento de cáncer de colon. La actividad excepcional del oxaliplatino en cáncer de colon está relacionada con la habilidad de esta droga de actuar como un sustrato para OCTs, que se sobreexpresan en gran proporción en los pacientes con cáncer de colon.

No muestra resistencia cruzada con cisplatino o carboplatino pero está asociado con otros efectos secundarios como neuropatía sensorial o supresión hematológica.

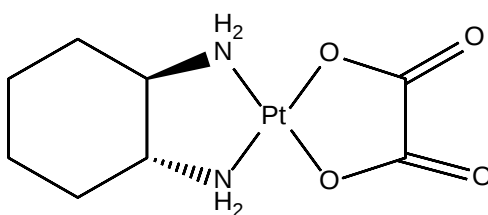


Figura 11. Estructura del oxaliplatino (3ª generación, cambio de aminos).

•Nedaplatino

Este compuesto sólo ha sido aprobado para tratamiento en Japón (figura 12), lugar de su descubrimiento (Lebwohl, D. *et col.* 1998; Shimada, M. *et col.* 2013). En el caso del nedaplatino, el ligando saliente es glicolato, lo que le confiere mayor solubilidad en agua que los dos ligandos cloruro en el cisplatino.

El nedaplatino es utilizado principalmente para tratar cáncer de cuello, esófago y pulmón entre otros (Alberts, D. *et col.* 1998; Wheate, N.J. *et col.* 2010).

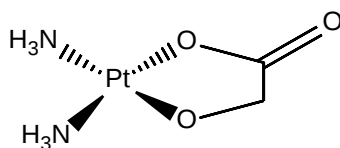


Figura 12. Estructura del nedaplatino.

•Heptaplatino

Este compuesto fue desarrollado en Corea y se aprobó su utilización en 1999 en Corea. Se utiliza para el tratamiento de cáncer gástrico. El heptaplatino tiene como ligando saliente el grupo malonato y como ligando quelante 2-(1-metiletil)-1,3-dioxolano-4,5-dimetanamina (figura 13). El ligando no saliente forma un anillo de siete miembros, dándole al fármaco su nombre característico (Johnstone, C. *et col.* 2016).

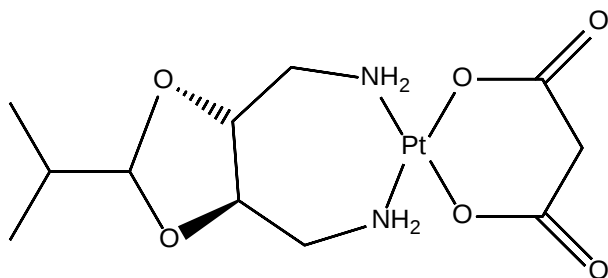


Figura 13. Estructura del heptaplatino.

•Lobaplatino

Se puede tratar como un derivado del heptaplatino, donde un anillo de ciclobutano está fusionado a un anillo de siete miembros (figura 14).

Este compuesto fue desarrollado originariamente en Alemania pero finalmente los derechos fueron adquiridos por China donde ha sido aprobada su comercialización. Este compuesto se aprobó para tratar la leucemia crónica mielógena pero también se usa para el tratamiento de cáncer de pulmón de células pequeñas y para el cáncer metastático de mama (Haroutounian, S.A. *et col.* 1986).

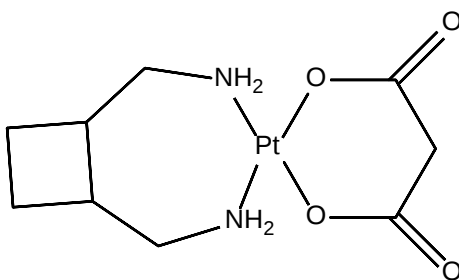


Figura 14. Estructura del lobaplatino.

• Picoplatino

El picoplatino es el *cis*-diaminodicloro-2-metilpiridinaplatino(II) (figura 15). Fue diseñado para suministrar un grupo voluminoso alrededor del centro metálico. El picoplatino mantiene la actividad a un amplio rango de células *cis*platino- y oxaliplatino- resistentes. Se observa un efecto sinérgico cuando se combina con paclitaxel.

En ensayos clínicos en fase I y II, el picoplatino demostró actividad en una variedad de tumores sólidos, incluyendo cáncer de pulmón, ovario, colorrectal y próstata. Sin embargo, en los ensayos en fase III, el picoplatino falló en cáncer de pulmón de células pequeñas avanzado.

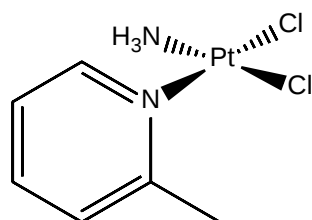


Figura 15. Estructura del picoplatino.

4.2.2. Complejos de platino(IV)

El potencial anticancerígeno de los complejos de platino(IV) fue reconocido al tiempo que el descubrimiento del *cis*platino, pero es ahora cuando se está teniendo en cuenta su valor clínico (Rosenberg, B. *et col.* 1969). Las propiedades fisicoquímicas del platino(IV) son muy diferentes del platino(II). A diferencia de los complejos de platino(II) que son planocuartados, los complejos de platino(IV) son hexacoordinados presentando una geometría octaédrica normalmente. La esfera de coordinación del platino(IV) es más resistente a la sustitución de ligandos, minimizando las reacciones secundarias que podrían tener lugar antes de unirse al

ADN. Los ligandos adicionales permiten diseñar complejos con las propiedades biológicas deseadas.

Estos complejos pueden ser activados una vez penetran en la célula mediante agentes reductores (ascorbato o glutatión) para dar las especies que en realidad son citotóxicas, es decir, los compuestos de platino(II). En este proceso se producirá también la pérdida de los dos ligandos axiales. Este hecho ofrece la ventaja potencial sobre los complejos de platino(II) de que puedan ser suministrados vía oral, se disminuya la resistencia y la toxicidad de estos compuestos.

•Ormaplatino

También conocido como tetraplatino o tetracloro(*trans*-1,2-diaminociclohexano) platino (IV) (figura 16), fue uno de los primeros compuestos de platino(IV) que se sometió a ensayos clínicos (Gibbons, G.R. *et col.* 1989) .El ormaplatino ha demostrado tener actividad tanto *in vivo* como *in vitro* contra algunos tumores resistentes al cisplatino (Rose, W.C. *et col.* 1982; Anerson, W. K. *et col.* 1986; Rahman, A. *et col.* 1988; Parker, R., *et col.* 1993; Schilder, R.J. *et col.* 1994). El problema que presenta el ormaplatino es una alta neurotoxicidad.

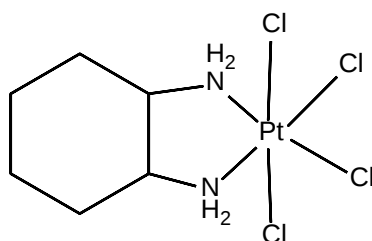


Figura 16. Estructura del ormaplatino.

•Iproplatino

Este compuesto, también conocido como *cis,trans,cis*-diclorohidroxobis (isopropilamina)platino(IV) (figura 17), es estructuralmente parecido al ormaplatino en cuanto a que posee dos cloros que se encuentran en posición *cis* el uno con respecto del otro. Estudios realizados con carbono-14, demuestran que el mecanismo de acción del iproplatino consiste en la reducción del centro de platino(IV) a platino(II), seguido de unión covalente con el ADN.

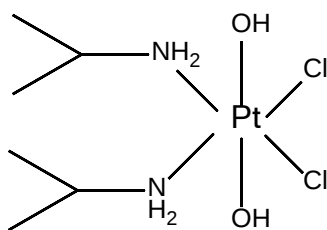


Figura 17. Estructura del iproplatino.

El iproplatino es menos propenso a la reducción y desactivación propiciadas por agentes biológicos reductores que el ormaplatino, lo que puede estar debido a que a la presencia de grupos hidroxilo. La lenta desactivación de este producto permite una mejor distribución por todo el cuerpo.

Otra de las ventajas que presenta este fármaco es su fácil solubilización en agua, lo que permite una simple formulación y administración.

Por todo esto, el iproplatino es uno de los compuestos de platino más estudiados, tal es así que ha conseguido llegar a la fase III en los ensayos clínicos, llegando a ser probado en cáncer de ovario, además de otros (de Wit, R. *et col.* 1991; Anderson, H., *et col.* 1988)

•Satraplatino

Este fármaco, también conocido como *trans,cis,cis*-bis(acetato) aminociclohexilaminodicloroplatino(IV) (figura 18), fue el primero cuyo tratamiento se realizó de forma oral (Kelland, L.R. *et col.* 1993, Bhargava, A. *et col.* 2009). El tiempo medio de reducción del satraplatino es el adecuado para que su absorción se produzca a través de la mucosa gastrointestinal (Kelland, L.R. 2000). Una vez dentro del torrente sanguíneo el satraplatino se reducirá y dará lugar a seis especies distintas de platino(II) (Johnstone, C. *et col.* 2016).

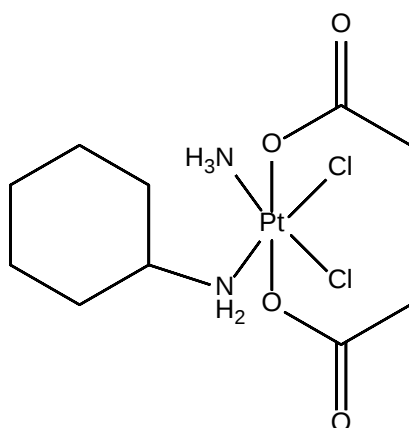


Figura 18. Estructura del satraplatino.

En estudios preclínicos se observó que el satraplatino presentaba un perfil tóxico más favorable que el cisplatino y que era útil en algunos casos en los que los tumores se mostraban resistentes al cisplatino. Esto último parece estar debido a la estructura del satraplatino, que puede evitar ser reconocido por las proteínas de reparación del ADN (Fink, D. *et col.* 1996; Vaisman, A. *et col.* 1999; Wei, M. *et col.* 2001)

En estudios realizados con ratones, se observó que el satraplatino presentaba una actividad antitumoral relativa superior a la del cisplatino, carboplatino y ormaplatino (Kelland, L.R. *et col.* 1993). Estos resultados acompañados del bajo perfil de toxicidad que presenta, llevó a algunas empresas a iniciar los ensayos clínicos pertinentes, hasta alcanzar la fase III, llamada Satraplatino y Prednisona contra el cáncer reincidente con 950 pacientes (Petrylak, D.P. *et col.* 2007; Sternberg, C.N. *et col.* 2007). Éste estudio observó que la combinación de estos dos fármacos daba lugar a un 36% de disminución de la progresión del dolor y a una mejora en la progresión de las tasas de supervivencia (Johnstone, C. *et col.* 2016).

•LA12

Es un derivado del satraplatino en el que el ligando ciclohexilamina es sustituida por la adamantilamina (Bouchal, P. *et col.* 2011) (figura 19).

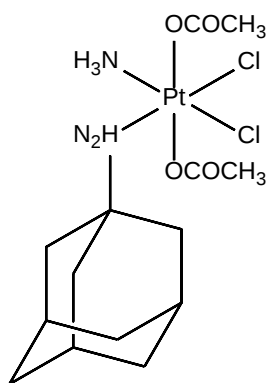


Figura 19. Estructura del LA12.

En algunos estudios se observó que tenía una eficacia superior a otros compuestos, entre ellos el cisplatino (Turánek, J. *et col.* 2004; Kzubík, A. *et col.* 2005; Horváth, V. *et col.* 2006). Sin embargo, estudios más detallados confirmaron que pese a no ser tóxico a nivel hepático y nefrológico y no presentar efectos adversos en los aparatos respiratorio, cardiovascular y motor, se ponía de manifiesto la enorme toxicidad sanguínea que acarrearba el fármaco dando lugar a leucocitopenia, trombocitopenia o neuropenia (Cermanová, J. *et col.* 2004; Sova, P. *et col.* 2005).

4.2.3. La próxima generación de complejos de platino basados en cisplatino

En este apartado se va a hacer una revisión sobre compuestos de platino con actividad anticancerígena conocida a los que se les incorpora unidades diana. Estas unidades diana dirigen los complejos de platino a las células cancerosas interaccionando con receptores que se han sobreexpresado en la superficie de estas células.

• Complejos de Pt(II) conjugados con azúcares

Se están sintetizando análogos de cisplatino donde los ligandos amino son reemplazados por aminoazúcares ya que las células cancerosas necesitan mayores niveles de glucosa para obtener la energía necesaria para la división celular y esto provoca la sobreexpresión de transportadores de membrana de glucosa. En la figura 20 se muestra la estructura de algunos complejos de platino que han mostrado una actividad antitumoral significativa.

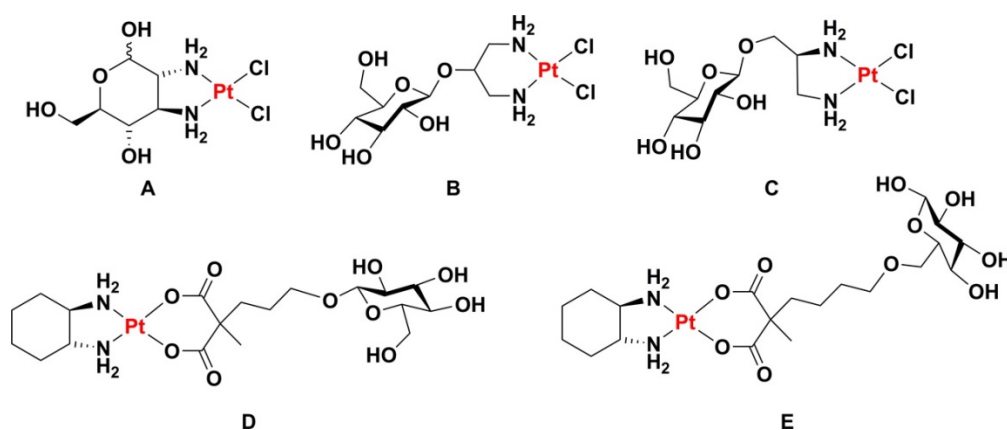


Figura 20. Estructura química de complejos de Pt(II) conjugados con azúcares.

• Complejos de Pt(II) con esteroides

Otro tipo de complejos de platino(II) son aquellos que incorporan una unidad esteroidea como ligando no saliente. Estos esteroides pueden actuar como unidades diana que dirigen al agente de platino a tejidos que expresan el receptor esteroideo similar. Por ejemplo, el receptor estrógeno es un objetivo oncológico establecido ya que esta proteína se sobreexpresa en las superficies de algunos cánceres como el de mama en el que se estimula la proliferación celular.

Se han publicado multitud de basado en esteroides de han publicado (Johnstone, C. *et col.* 2016). La estructura de algunos de los complejos sintetizados con estrógenos se muestra en la figura 21.

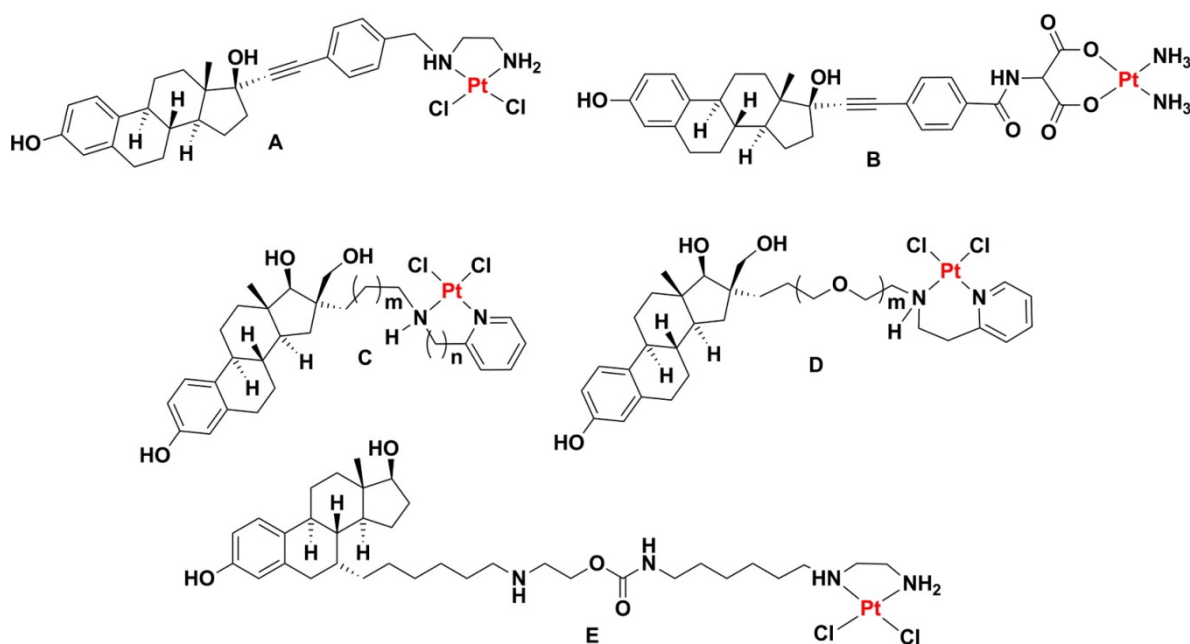


Figura 21. Estructura química de complejos de Pt(II) conjugados con estrógenos.

• Complejos de Pt(II) con folatos

Hay cánceres donde se produce una sobreexpresión de una glicoproteína que actúa como receptor folato. El ácido fólico es vital en una serie de rutas bioquímicas centrales incluidas aquellas relativas a la síntesis de ADN. Para que tenga lugar un crecimiento celular rápido, la absorción de folato se incrementa en células cancerosas y, por tanto, el folato puede ser un objetivo en el que actuar los complejos de platino.

Se han preparado una serie de derivados del cisplatino y el carboplatino que presentan una unidad folato (figura 22). El inconveniente de estos compuestos radica en la baja solubilidad que impide su uso en experimentos biológicos.

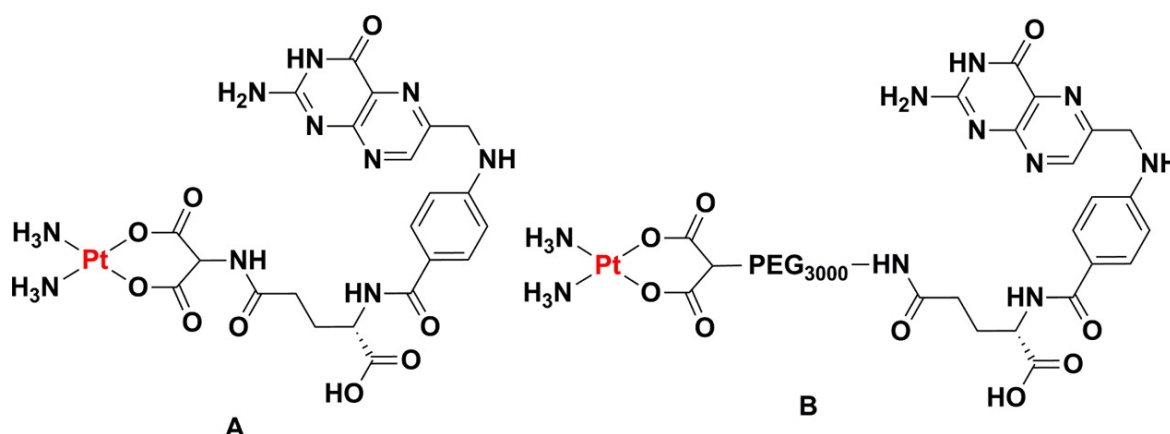


Figura 22. Estructura química de complejos de Pt(II) derivados de folato.

• Complejos de Pt(II) derivados de péptidos

Se trata de la unión de un complejo de platino(II) a un péptido a través de un ligando de etilendiamina funcionalizado no saliente (figura 23). De momento estos compuestos sólo se han usado para medir la actividad anticancerígena *“in vitro”*, aunque no se han obtenido resultados significativos. Estos péptidos conjugados exhiben una capacidad reducida para platar el ADN y reducida toxicidad.

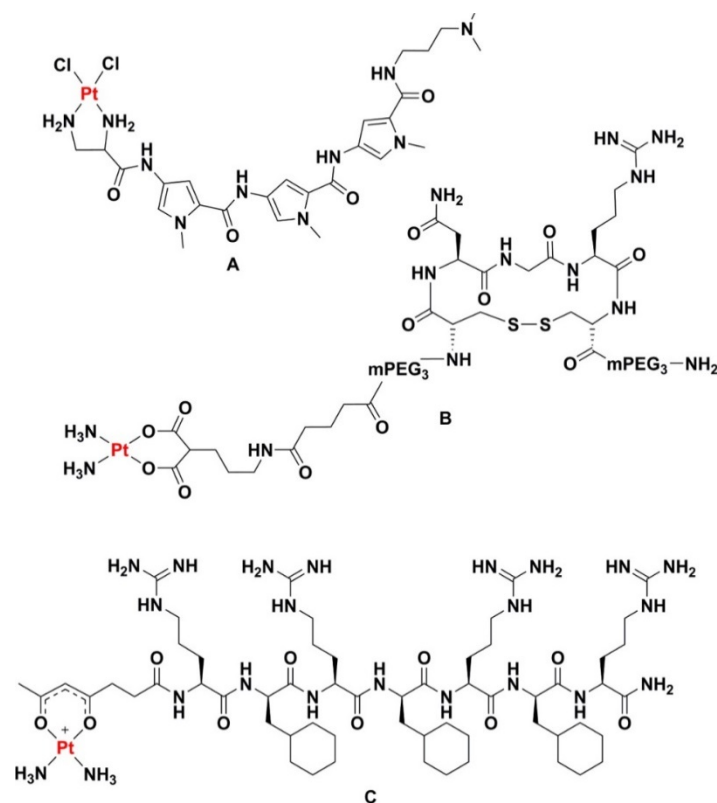


Figura 23. Estructura química de complejos de Pt(II) derivados de péptidos.

4.2.4. Complejos de platino(II) que no se unen de forma covalente al ADN

Los complejos de platino(II) que no se unen covalentemente al ADN han mostrado interesantes propiedades y constituyen una alternativa a los fármacos de platino convencionales.

Se están utilizando metalintercaladores con ligandos heterocíclicos π -conjugados, como bupiridina, terpiridina y fenantrolina que utilizan interacciones π - π stacking e interacciones dipolo-dipolo para intercalarse entre los pares de bases en la doble hélice del ADN (Jennette, K. W et col. 1974; Long, E. C. et col. 1990; Wu, Y.S et col. 2005) (figura 24). Estos metalintercaladores pueden desenrollar, doblar y distorsionar al ADN. Este efecto estructural es el que puede influir en sus propiedades antiproliferativas.

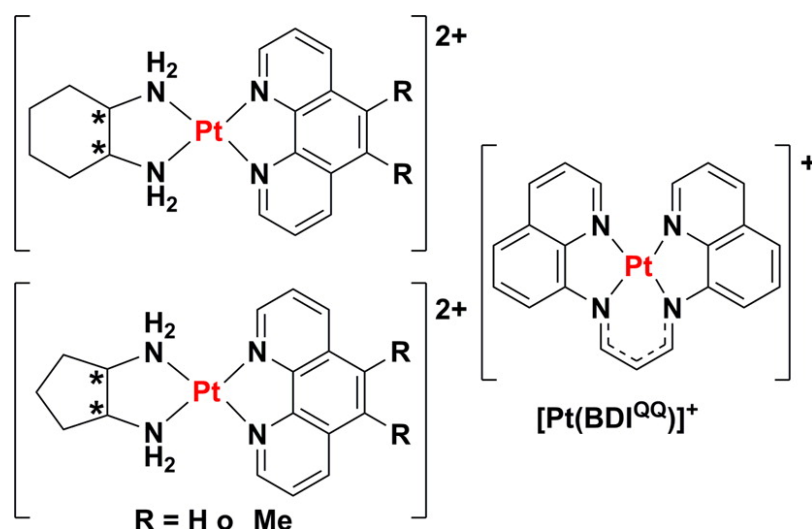


Figura 24. Estructura química de complejos de Pt(II) derivados de ligandos heterocíclicos.

4.2.5. Complejos de platino(II) monofuncionales

Los complejos de platino(II) monofuncionales (figura 25) representan otro tipo de agentes anticancerígenos prometedores. Estos complejos sólo poseen un ligando lábil y, por tanto, se espera que sólo formen un enlace covalente con el ADN.

Los primeros estudios que se hicieron con estos compuestos no fueron muy prometedores, de ahí que su estudio se abandonara durante dos décadas (Johnstone, C. *et col.* 2016), pero después de una revisión de los complejos catiónicos monofuncionales de platino(II), se obtuvieron datos importantes sobre el papel de los OCTs (transportadores catiónicos orgánicos) en la absorción y actividad del oxaliplatino (Di pasqua, A.J. *et col.* 2006); Johnstone, C. *et col.* 2014). Entre estos compuestos, se observó que el complejo $[Pt(NH_3)_2(\text{piridina})Cl]^+$, llamado piriplatino se transportaba bien al interior de células que sobreexpresaban transportadores orgánicos catiónicos 1 y 2 (Lovejoy, K. S. *et col.* 2008; Lovejoy, K. S. *et col.* 2011).

Estudios *in vitro* en células de adenocarcinoma de pulmón demostraron que el piriplatino dañaba el ADN induciendo la apoptosis de las células (Lovejoy, K. S. *et col.* 2011).

La baja potencia de este compuesto en relación a los convencionales impulsó una búsqueda de análogos más activos. Esto dio lugar al descubrimiento del fenantriplatino. Este compuesto ataca sólo a las células cancerígenas, lo que indica un mejor funcionamiento que el cisplatino. Debido a la pérdida del ligando cloruro, el

fenantriplatino, forma aductos monofuncionales tanto con las guaninas como con la doble hélice de ADN. Otros compuestos antitumorales de interés son aquellos con unidades de acridina. Un ejemplo muy reciente de estos compuestos es el Pt-ACRAMTU (figura 26) (Baruah, H. *et col.* 2002). En este caso, la unidad de acridina se intercala produciendo el alargamiento y el desenrollamiento del ADN.

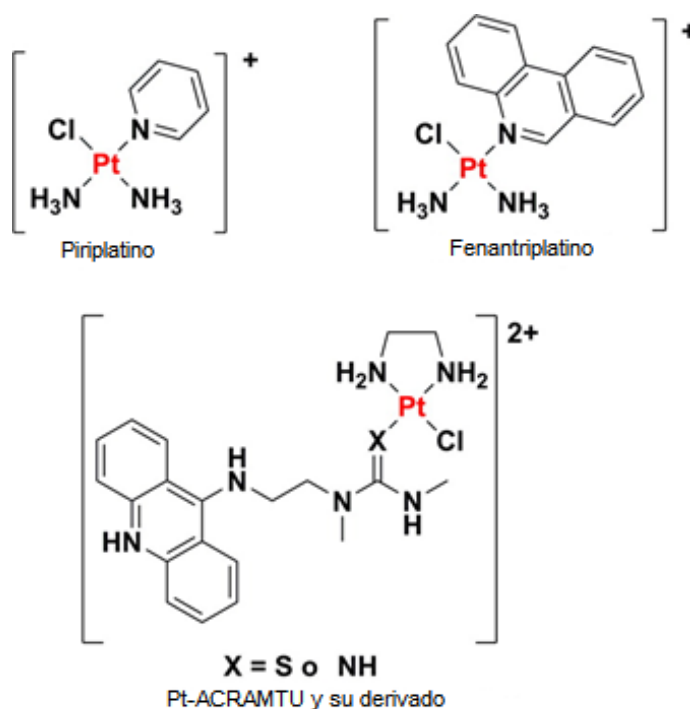


Figura 25. Estructura química de complejos de Pt(II) monofuncionales.

4.2.6. Complejos de platino(IV) activados por luz

La activación mediante luz es un modo posible de aumentar la eficacia de fármacos basados en Pt(IV), evitando un daño innecesario a tejidos normales y liberando el fármaco activo principalmente en el tumor. Los compuestos utilizados normalmente son estables a la activación térmica alcanzando el objetivo intacto. Por ejemplo, complejos del tipo $Pt(OH)_2(N_3)(amina1)(amina2)$ (figura 26) pueden ser fotoactivados (Barry, N.P.E., 2013). La irradiación a una longitud de onda adecuada causa la disociación de uno o dos ligandos dando lugar a complejos de Pt(II). Tras un corto tratamiento y bajos tiempos de irradiación, reacciona rápidamente con las bases del ADN como la guanina. Curiosamente, los derivados *trans* son más efectivos como agentes anticancerígenos fotoactivables que los isómeros *cis*. Estos complejos son incluso más efectivos que el cisplatino.

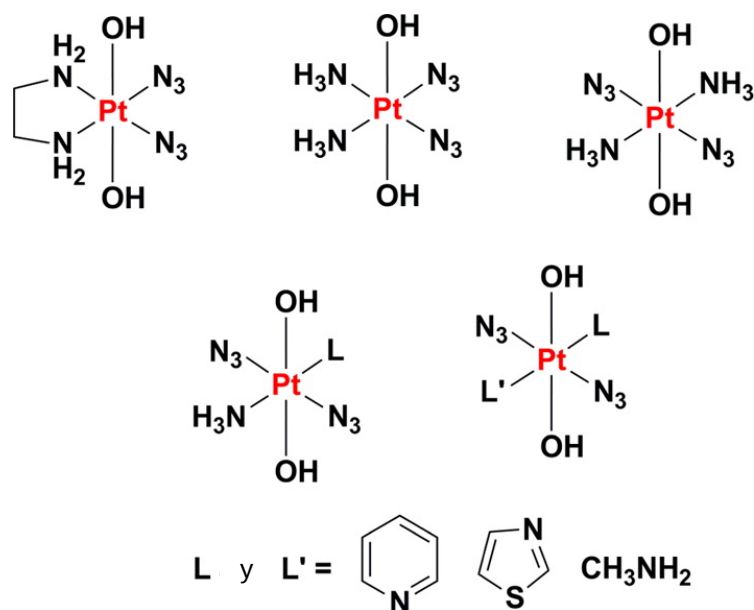


Figura 26. Estructura química de complejos de Pt(II)-diazida *cis*- y *trans*- fotoactivables.

4.3. Nanoliberación de complejos de platino(IV)

Uno de los paradigmas en el diseño de agentes antitumorales de platino(IV) es que posean ligandos ecuatoriales idénticos a aquellos complejos de platino(II) con actividad anticancerígena establecida y con ligandos axiales que permitan modular las propiedades fisicoquímicas del compuesto o conferir una actividad biológica adicional (Johnstone, C. *et col.* 2016). Una alternativa que guía el desarrollo de algunos profármacos de platino(IV) es el deseo de incorporar el complejo en un dispositivo de liberación de fármacos que posea dimensiones nanométricas.

La ventaja que ofrece cualquier sistema de liberación, a escala macroscópica o nanométrica, es la de reducir la dosis que se aplica, al mismo tiempo que aumentar la concentración de agente activo que actúa en el sitio diana. Las nanopartículas ofrecen la oportunidad de transportar cualquier carga y aumentar su retención en la sangre (Farokhzad, O.C. *et col.* 2009). En la nanoliberación, la principal ventaja derivada del uso de nanopartículas es la actuación, pasiva o activa, que se puede realizar sobre el tumor objetivo (Peer, D. *et col.* 2007; Ruoslahti, E. *et col.* 2010). Los complejos que actúan de manera pasiva permiten que el fármaco que se encuentra en el torrente sanguíneo se acumule en el tumor objetivo. Este fenómeno conocido como efecto mejora de permeabilización y retención (ERC), ocurre debido a que la

vasculatura del tumor se encuentra dañada y el tejido tumoral se encuentra poco irrigado por el sistema linfático (figura 27) (Maeda, H., *et col.* 2000).

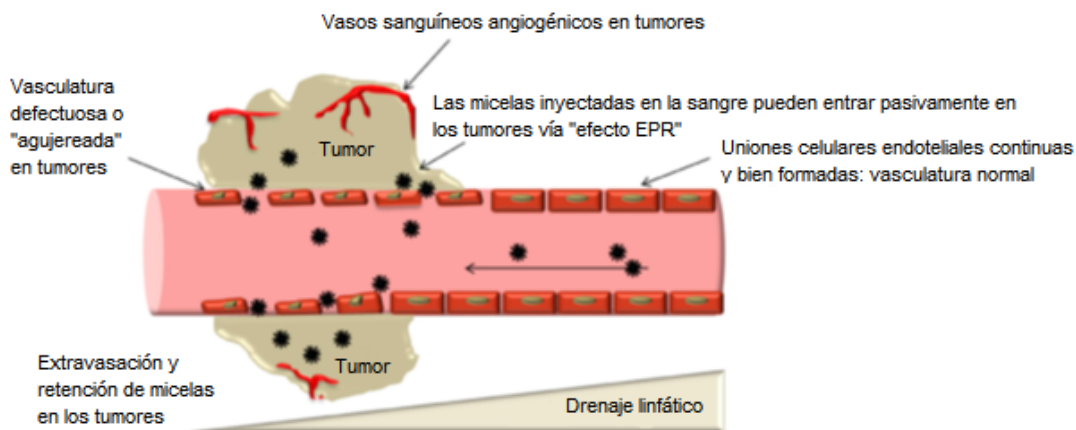


Figura 27. Nanopartículas llegando al tejido tumoral a través del torrente sanguíneo.

Si la superficie de la nanopartícula presenta un ligando que puede ser reconocido selectivamente en la superficie de la célula tumoral, ésta será susceptible de ser absorbida por endocitosis mediada por receptor.

La utilización de nanopartículas permite aumentar la incorporación de los complejos de platino en medios acuosos, reducir su toxicidad, y además, que tengan la capacidad de conducir al principio activo a un blanco específico. Los distintos nanomateriales que pueden constituir un sistema vector pueden ser (Johnstone, C. *et col.* 2016):

- Materiales de carbón, sobre todo nanotubos de carbono.

Los nanotubos de carbono se están utilizando mucho como vehículos liberadores de medicamentos, por tanto, se están preparando complejos de Pt(IV) soportados sobre nanotubos como los que se pueden observar en la figura 28.

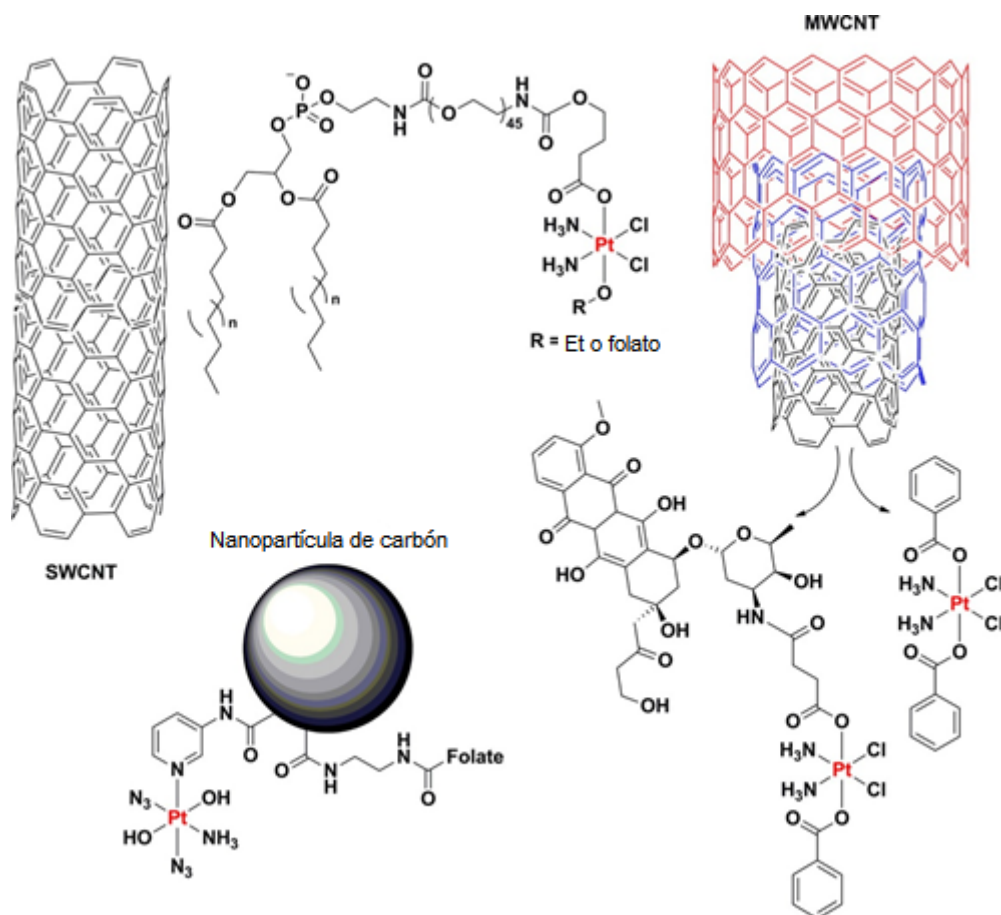


Figura 28. Estructura de nanoliberadores basados en carbón.

- Nanopartículas de oro.
- Nanopartículas derivadas de compuestos con lantánidos.
- Nanopartículas derivadas de compuestos con óxido de hierro.
- Nanopartículas basadas en polímeros.

Estos sistemas constituyen la forma más simple de vectorización de cisplatino. Para poder generar esta clase de sistemas, se requiere que el polímero presente grupos ligantes disponibles al metal, como grupos amino o hidroxilo. El número de complejos depende tanto de la cantidad de grupos ligantes como del modo de unión, monodentado o bidentado.

Algunos polímeros que pueden presentar este tipo de complejos son el poli(ácido aspártico), el poli(ácido glutámico) o polímeros con grupos ligantes terminales como los dendrímeros de poli(amidoamina) o poli(N-(2-hidroxipropil) metacrilamina) que dan lugar a micelas poliméricas.

- Nanopartículas basadas en proteínas.

4.4. Nanoliberación de complejos de platino(II)

Se han descrito en bibliografía nanoestructuras diseñados para liberar complejos de platino(II) (Wang, X. *et col.* 2013; Haxton, K.J. *et col.* 2009; Gabano, E. *et col.* 2009) ; Kieler-Ferguson, H.M. *et col.* 2013). Entre ellas encontramos dos ejemplos significativos, el ProLindac y el lipoplatino.

•ProLindac

Se han preparado compuestos platinados donde el grupo saliente de tanto el cisplatino/carboplatino u oxaliplatino se ha sustituido por un ligando quelante unido a la cadena principal del polímero (Oberoi, H.S. *et col.* 2013). En concreto, el ProLindac se basa en un derivado del oxaliplatino en el que el centro metálico se coordina a un amidomalonato unido a HPMA (polímero no tóxico de poli(N-(2-hidroxipropil) metacrilamida) a través de una espaciador triglicina (Nowotnik, D.P. *et col.* 2009) (figuras 29 y 30).

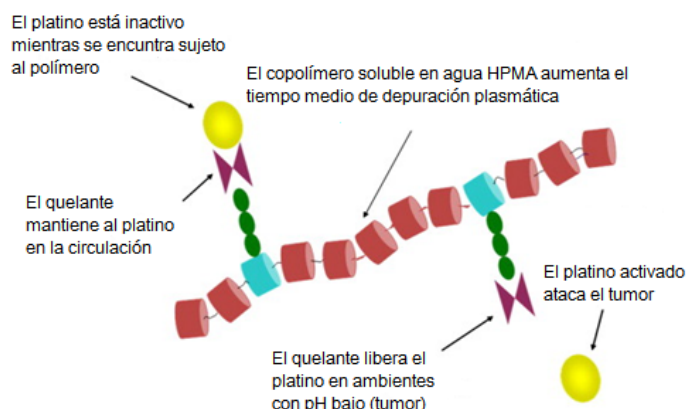


Figura 29. Esquema de la estructura general del ProLindac y modo general de acción.

Este fármaco se ha utilizado en la fase I de los ensayos clínicos y los pacientes respondieron bien a él, además de no sufrir un impacto significativo en sus células sanguíneas (Campone, M. *et col.* 2007). En ensayos clínicos de fase I/II ha demostrado también ser tolerado por pacientes con cáncer de ovario avanzado, además de poseer un efecto similar al oxaliplatino (Nowotnik, D.P. *et col.* 2009) aunque sin manifestar neurotoxicidad. Este descubrimiento ha sido significativo ya

que se presenta como una alternativa debido a la neurotoxicidad que presentan los tratamientos con oxaliplatino, según determinadas dosis (Johnstone, C. *et col.* 2016).

Un estudio en fase II donde se utilizan el ProLindac y Paclitaxel se utilizó en cáncer de ovario en 2010. Los resultados de este estudio aún no han sido publicados.

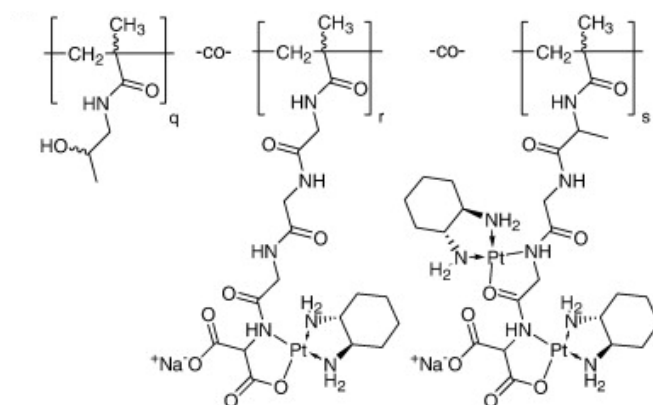


Figura 30. Estructura parcial del ProLindac.

•Lipoplatino

Los liposomas son estructuras vesiculares autoensambladas compuestas por una bicapa lipídica. El atractivo de estas moléculas reside en que pueden actuar como vehículos porque encapsulan fármacos hidrofílicos que pueden viajar en su lumen acuoso o compuestos hidrofóbicos en la propia bicapa (Ait-Oudhia, S. *et col.* 2014). La funcionalización de la capa exterior con PEG puede producir los llamados “liposomas furtivos” que circulan por el torrente sanguíneo evitando ser eliminados de la sangre.

Los resultados que se obtuvieron en las fases I y II de los ensayos clínicos, concluyeron en 2001, mostrando una eficacia menor que aquellos tratamientos que usaban el cisplatino de manera estándar (Zalba, S. *et col.* 2013). Sin embargo, ese mismo año, otra preparación liposomal con cisplatino con una formulación diferente llegó a los ensayo clínicos (Johnstone, C. *et col.* 2016). Este compuesto era el lipoplatino (figura 31), cuyo núcleo acuoso estaba cargado de cisplatino.

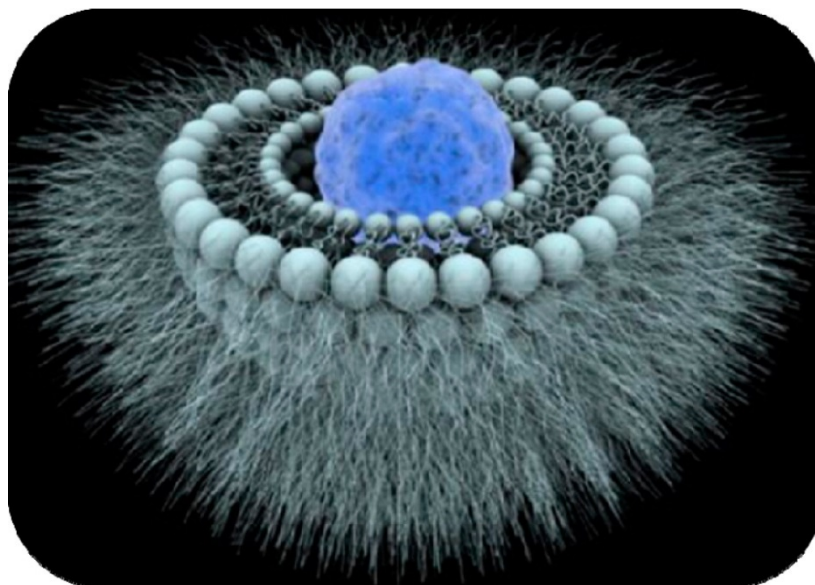


Figura 31. Lipoplatino cargado de cisplatino en su interior.

El lipoplatino ha sido utilizado para el tratamiento de distintos tipos de cáncer, como el de mama o el de células pequeñas de pulmón. Por otra parte, la dosis limitante tóxica del cisplatino en cuanto nefrotoxicidad, se redujo en gran medida (Johnstone, C. *et col.* 2016).

5. BIBLIOGRAFÍA

Ait-Oudhia, S., Mager, D. E., Straubinger, R. M., *Pharmaceutics*. 6, 2014, 137.

Alberts, D. S., Dorr, R. T., *Oncologist*. 3, 1998, 15.

Anderson, H., Wagstaff, J., Crowther, D., Swindell, R., Lind, M. J., McGregor, J., Timms, M. S., Brown, D., Palmer, P., *Eur. J. Cancer Clin. Oncol.* 24, 1988, 1471.

Anderson, W. K., Quagliato, D. A., Haugwitz, R. D., Narayanan, V. L., Wolpert-DeFilippes, M. K., *Cancer Treat. Rep.* 70, 1986, 997.

Arnesano, F., Pannunzio A., Coluccia, M., Natile, G., *Coord. Chem. Rev.*, 284, 2015, 286.

Barry, N. P. E., Sadler, P. J., *ACS Nano*. 7, 2013, 5654.

Baruah, H., Rector, C. L., Monnier, S. M., Bierbach, U., *Biochem. Pharmacol.* 64, 2002, 191.

Bellail, A. C., Qi, L., Mulligan, P., Chhabra, V., Hao, C., *Rev. Recent. Clin. Trials.* 4, 2009, 34.

Benedetti, M. Ducani, C., Migoni, D., Antonucci, D., Vecchio, V., Ciccarese, A., Romano, A., Verri, T., Ciccarella, G., Fanizzi, F., *Angew. Chem. Int. Ed.* 47, 2008, 507.

Bhargava, A.; Vaishampayan, U. N., *Expert Opin. Invest. Drugs.* 18, 2009, 1787.

Bhatt, K., Zhou, L., Mi, Q.S., Huang, S., She, J.X., Dong, Z., *Mol. Med.* 16, 2010, 409.

Bossi, G., Lapi, E., Strano, S., Rinaldo, C., Blandino, G., Sacchi, A., *Oncogene*, 25, 2006, 304.

Bouchal, P., Jarkovsky, J., Hrazdilova, K., Dvorakova, M., Struharova, I., Hernychova, L., Damborsky, J., Sova, P., Vojtesek, B., *Proteome Sci.* 9, 2011, 68.

Brabec, V., Kasparkova, J., *Drug Resist. Updat.* 8, 2005, 131.

Brabec, V., Kopp Publ, 2005.

Brozovic, A., Ambriović-Ristov, A., Osmak, M., *Crit. Rev. Toxicol.* 40, 2010, 347.

Campone, M., Rademaker-Lakhai, J. M., Bennouna, J., Howell, S. B., Nowotnik, D. P., Beijnen, J. H., Schellens, J. H. M., *Cancer Chemother. Pharmacol.* 60, 2007, 523.

Caradonna, J.P., Lippard, S. J., Gait, M. J., Singh, M., *Am. Chem. Soc.* 104, 1982, 5793.

Čermanová, J., Chládek, J., Sova, P., *et col.* *Methods Find Exp Clin Pharmacol.* 26, 2004, 679.

Che, C.M., Siu, F.M., *Curr. Opin. Chem. Biol.* 14, 2010, 255.

Chen, D., Milacic, V., Frezza, M., Dou, Q.P., *Curr. Pharm. Des.* 15, 2009, 777.

Cruet-Hennequart, S., Glynn, M. T., Murillo, L. S., Coyne, S., Carty, M.P. ADN repair 7, 2008, 582.

Dabrowiak, J. C., Metals in Medicine, Wiley: Hoboken, 2009.

de Wit, R., Tesselaar, M., Kok, T. C., Seynaeve, C., Rodenburg, C. J., Verweij, J., Helle, P. A., Stoter, G., Eur. J. Cancer Clin. Oncol. 27, 1991, 1383.

Desoize, B., Crit. Rev. Oncol. Hematol. 42, 2002, 1.

Di Pasqua, A. J., Goodisman, J., Kerwood, D. J., Toms, B. B., Dubowy, R. L., Dabrowiak, J. C., Chem. Res. Toxicol. 19, 2006, 139.

Farokhzad, O. C., Langer, R., ACS Nano. 3, 2009, 16.

Fink, D., Nebel, S., Aebi, S., Zheng, H., Cenni, B., Nehmé, A., Christen, R. D., Howell, S. B., Cancer Res. 56, 1996, 4881.

Florea, A.M, Büsselberg, D., Neurotoxicology 30, 2009, 803.

Florea, A.M, Büsselberg, D., Cancers 3, 2011, 1351.

Florea, A.M., Büsselberg, D., Biometals, 19, 2006, 419.

Foltinová, V., Švihálková Šindlerová L., Horváth V., Sova P., Hofmanová J., Janisch R., Kozubík A., *et col.* Script. Med. 81, 2008,105.

Gabano, E., Ravera, M., Osella, D., Curr. Med. Chem. 16, 2009, 4544.

Gabbiani, C., Casini, A., Mastrobuoni, G., Kirshenbaum, O., Moshel, G., Pieraccini, G., Moneti, L., Messori, D., Gibson, J., Biol. Inorg. Chem. 13, 2008, 755.

García-Ramos, J. C., Galindo-Murillo, R., Cortés-Guzmán, F., Ruiz-Azuara, L., Sociedad Química de México, 57, 2013, 245.

Gibbons, G. R., Wyrick, S., Chaney, S. G., Cancer Res. 49, 1989, 1402.

Gómez Gómez M.M., Moreno Gordaliza E., Mena Fernández M.L., Palacios M.A.. An. Quím. 108, 2012, 21.

Graham, J., Muhsin, M., Kirkpatrick, P., Nat. Rev. Drug Discovery. 3, 2004, 11.

Hail, N., Lothan, R., Mol. Nutr. Food Res. 53, 2009, 49.

Haroutounian, S. A.; Georgiadis, M. P.; Bailar, J. C., Inorg. Chim. Acta. 124, 1986, 124, 137.

Hartmann J.T., Kollmannsberger C., Kanz L., Int. J. Cancer. 83, 1999, 866.

Haxton, K. J., Burt, H. M., J. Pharm. Sci. 98, 2009, 2299.

Horváth. V., Blanárová, O., Švihálková-Šindlerová, L., *et col.* Gynecol. Oncol. 102, 2006, 32.

Hunter, C.A., Lawson, K. R., Perkins, J., Urch, C. J., J. Chem. Soc. 2001, 651.

Iversen, T.-G., Skotland, T., Sandvig, K., Nano Today. 6, 2011, 176.

Jennette, K. W.; Lippard, S. J.; Vassiliades, G. A.; Bauer, W. R. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 71, 1974, 3839.

Jhaveri, A. M., Torchilin, V. P., Front. Pharmacol. 5, 2014, 00077.

Johnstone, T. C., Alexander, S. M., Wilson, J. J., Lippard, S. J., Dalton Trans. 44, 2015, 119.

Johnstone, T. C., Park, G. Y., Lippard, Anticancer Res. 34, 2014, 471.

Jung, Y., Lippard, S. J., J. Biol. Chem. 281, 2006, 1361.

Jung, Y., Lippard, S.J., Chem. Rev. 107, 2007, 1387.

Karger, A.G., Basel lioka, Y., Mishima, K., Azuma, N., Tsuchida, A., Takagi, Y., Aoki, T., Saito, I., Pathbiology, 72, 2005, 152.

Kartalou, M., Essigmann, J.M., Mutat. Res. 478, 2001, 23.

Katano, K., Safaei, R., Samimi, G., Holzer, A., Tomioka, M., Goodman, M., Howell, S.B., Clin. Cancer Res. 10, 2004, 4578.

Kelland, L. R., Abel, G., McKeage, M. J., Jones, M., Goddard, P. M., Valenti, M., Murrer, B. A., Harrap, K. R., *Cancer Res.* 53, 1993, 2581.

Kelland, L. R., *Expert Opin. Invest. Drugs.* 9, 2000, 1373.

Kelland, L., *Nature Reviews*, 7, 2007, 573.

Keller, G.A., Ponte, M.L., Di Girolamo, G., *Curr. Drug Saf.* 5, 2010, 105.

Kieler-Ferguson, H. M., Fréchet, J. M. J., Szoka, F. C., *Rev.: Nanomed. Nanobiotechnol.* 5, 2013, 130.

Kostova, I., *Curr. Med. Chem.* 13, 2006, 1085.

Kozubík, A., Horváth, V., Švihálková-Šindlerová, L., *et col.* *Biochem. Pharmacol.* 69, 2005, 373.

Kuo, M.T., Chen, H.H.W., Song, I.S., Savaraj, N., Ishikawa, T., *Cancer Metastasis Rev.* 26, 2007, 71.

Lebwohl, D., Canetta, R., *Eur. J. Cancer.* 34, 1998, 1522.

Lin, X., Okuda, T., Holzer, A., Howell, S.B., *Mol. Pharmacol.* 62, 2002, 1154.

Liu, M., Chien, C.C., Burne-Taney, M., Molls, R.R., Racusen, L.C., Colvin, R.B., Rabb, H.A., *J. Am. Soc. Nephrol.* 17, 2006, 765.

Long, E. C.; Barton, J. K, *Acc. Chem. Res.* 1990, 23, 271.

Lovejoy, K. S., Serova, M., Bieche, I., Emami, S., D'Incalci, M., Broggini, M., Erba, E., Gerspach, C., Cvitkovic, E., Faivre, S., Raymond, E., Lippard, S. J., *Mol. Cancer Ther.* 2011, 10, 1709.

Lovejoy, K. S., Todd, R. C., Zhang, S., McCormick, M. S., D'Aquino, J. A., Reardon, J. T., Sancar, A., Giacomini, K. M., Lippard, S. J., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 105, 2008, 8902.

Maeda, H., Wu, J., Sawa, T., Matsumura, Y., Hori, K., *J. Controlled Release* 65, 2000, 271.

Masubuchi, Y., Kawasaki, M., Horie, T., Arch. Toxicol. 80, 2006, 347.

Momekov, G., Ferdinandov, D., Bakalova, A., Zaharieva, M., Konstantinov, S., Karaivanova, M., Arch. Toxicol. 80, 2006, 555.

Muhammad N., Guo Z., Current Opinion in Chemical Biology, 19, 2014, 144.

Nowotnik, D. P., Cvitkovic, E., Adv. Drug Delivery Rev. 61, 2009, 1214.

Oberoi, H. S., Nukolova, N. V., Kabanov, A. V., Bronich, T. K., Drug Delivery Rev. 65, 2013, 1667.

Park, C.M., Park, M.J., Kwak, H.J., Moon, S.I., Yoo, D.H., Lee, H.C., Park, I.C., Rhee, C.H., Hong, S.I., Int. J. Oncol. 28, 2006, 119.

Parker, R. J., Vionnet, J. A., Bostick-Bruton, F., Reed, E., Cancer Res. 53, 1993, 242.

Peer, D., Karp, J. M., Hong, S., Farokhzad, O. C., Margalit, R., Langer, R., Nat. Nanotechnol. 2, 2007, 751.

Petrylak, D. P., Sartor, O., Witje, F., Ferrero, J., Berry, W. R., Koletsky, A., Falcon, S., Nathan, F. E., Petrone, M. E., Sternberg, C., Proc. Am. Soc. Clin. Oncol. 2007, #145.

Pivonkova, H., Brazdova, M., Kasparkova, J., Brabec, V., Fojta, M., Biochem. Biophys. Res. Commun. 339, 2006, 477.

Pogribny, I.P., Filkowski, J.N., Tryndyak, V.P., Golubov, A., Shpileva, S.I., Kovalchuk, O., Int. J. Cancer. 127, 2010, 1785.

Qian, W., Nishikawa, M., Haque, A.M., Hirose, M., Mashimo, M., Sato, E., Inoue, M., Am. J. Physiol. Cell Physiol. 289, 2005, C1466.

Qiu, Y.Y., Mirkin, B.L., Dwivedi, R.S., 29, 2005, 456.

Rahman, A., Roh, J. K., Wolpert-DeFilippes, M. K., Goldin, A., Venditti, J. M., Woolley, P. V., Cancer Res. 48, 1988, 1745.

Ralph, S.J., Neuzil, J., Mol. Nutr. Food Res. 53, 2009, 9.

Raymond, E., Faivre, S., Chaney, S., Woynarowski, J., Cvitkovic, E., Mol. Cancer Ther. 1, 2002, 227.

Reedijk, J., Eur. J. Inorg. Chem. 2009, 1303.

Ronald, P., Raghu, K., Ganesa, R., William. B., Toxins, 2(11), 2010, 2490.

Rose, W. C., Schurig, J. E., Huftalen, J. B., Bradner, W. T., Cancer Treat. Rep. 66, 1982, 135.

Rosenberg, B., VanCamp, L., Trosko, J. E., Mansour, V. H., Nature. 222, 1969, 385.

Ruoslahti, E., Bhatia, S. N., Sailor, M. J., J. Cell Biol. 188, 2010, 759.

Safaei, R., Cancer Lett. 234, 2006, 34.

Samimi, G., Safaei, R., Katano, K., Holzer, A.K., Rochdi, M., Tomioka, M., Goodman, M., Howell, S.B., Clin. Cancer Res. 2004, 10, 4661.

Schilder, R. J., LaCreta, F. P., Perez, R. P., Johnson, S. W., Brennan, J. M., Rogatko, A., Nash, S., McAleer, C., Hamilton, T. C., Roby, D., Young, R. C., Ozols, R. F., O'Dwyer, P. J., Cancer Res. 54, 1994, 709.

Sedletska, Y., Giraud-Panis, M.J., Malinge, J.M., Curr. Med. Chem. 5, 2005, 251.

Shamini-Noori, S., Yeow, W.S., Ziauddin, M.F., Xin, H., Tran, T.L., Xie, J., Loehfelm, A., Patel, P., Yang, J., Schrupp, D.S., Fang, B.L., Nguyen, D.M., *et col.* Cancer Genether, 15, 2008, 356.

Shimada, M., Itamochi, H., Kigawa, J., Cancer Manage. Res. 5, 2013, 67.

Sova, P., Mistr, A., Kroutil, A., *et col.* Anticancer Drugs. 16, 2005, 653.

Splettstoesser, F., Florea, A.M., Büsselberg, D., Br. J. Pharmacol. 151, 2007, 1176.

Sriram, M., Wang, A., Bioog. Chem. Nucl. Ac. 1996, 105.

Sternberg, C. N., Petrylak, D., Witjes, F., Ferrero, J., Eymard, J., Falcon, S., Chatta, K., Vaughn, D., Berry, W., Sartor, O., Proc. Am. Soc. Clin. Oncol. 25, 2007, 5019.

- Tomaszewski, A., Büsselberg, D., *Neurotoxicology*, 28, 2007, 49.
- Torigoe, T., Izumi, H., Ishiguchi, H., Yoshida, Y., Tanabe, M., Yoshida, T., Igarashi, T., Niina, I., Wakasugi, T., Imaizumi, T., Momii, Y., Kuwano, M., Kohno, K., *Curr. Med. Chem. Anticancer Agents*, 5, 2005, 15.
- Turánek, J., Kašná, A., Záluská, D., *et col.* *Anticancer Drugs*. 15, 2004, 537.
- U.S. National Library of Medicine, Carboplatin Injection. Accessed: 2015; <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/druginfo/meds/a684036.html>.
- Vaisman, A., Lim, S. E., Patrick, S. M., Copeland, W. C., Hinkle, D. C., Turchi, J. J., Chaney, S. G., *Biochemistry* 38, 1999, 11026.
- Wang, D., Lippard, S.J., *J. Biol. Chem.* 279, 2004, 20622.
- Wang, D., Lippard, S.J., *Nat. Rev. Drug. Discov.* 4, 2005, 307.
- Wang, H., Qian, H., Yu, J., Zhang, X., Zhang, L., Fu, M., Liang, X., Zhan, Q., Lin, C., *Cancer Biol. Ther.* 5, 2006, 380.
- Wang, X., Guo, Z., *Chem. Soc. Rev.* 42, 2013, 202.
- Wang, Z.H., Miao, X.P., Tan, W., Zhang, X.R., Xu, B.H., Lin, D.X., *Ai Zheng*. 23, 2004, 865.
- Wei, M., Cohen, S. M., Silverman, A. P., Lippard, S. J., *J. Biol. Chem.* 276, 2001, 38774.
- Wenger, T., Mattern, J., Penzel, R., Gassler, N., Haas, T.L., Sprick, M.R., Walczak, H., Krammer, P.H., Debatin, K.M., Herr, I., *Cell Death Differ.* 13, 2006, 1740.
- Wheate, N. J., Walker, S., Craig, G. E., *Dalton Trans.* 39, 2010, 8113.
- Wozniak, K., Blasiak, J., *Acta Biochimica Polonica*, 49, 2002, 3.
- Wu, Y.S.; Koch, K. R.; Abratt, V. R.; Klump, H. H., *Arch. Biochem. Biophys.* 440, 2005, 28.
- Zalba, S., Garrido, M. J., *Expert Opin. Drug Delivery* 10, 2013, 829.