

# Síntesis de Nuevos Complejos de Platino(II) con Litigantes Orgánicos Derivados de la Aciltiourea y Evaluación de la Actividad Antitumoral en las Células de Adenocarcinoma Mamario TA3 de Ratón

Wilfredo Hernández Gorriti  
Facultad de Ciencias-UNI-Lima  
E-mail: whernandez79@yahoo.es

Lothar Beyer  
Facultad de Química-Universidad de Leipzig-Alemania  
E-mail: beyinorg@chemie.uni-leipzig.de

Evgenia Spodine  
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas-Universidad de Chile  
E-mail: espodine@uchile.cl

Recibido el 18 de mayo del 2005, aceptado el 18 de junio del 2005

Una de las áreas de la química bioinorgánica que ha tenido un gran desarrollo en los últimos años es el uso de los compuestos de coordinación con fines medicinales. Así, existe evidencia que ligandos derivados de la tiourea,  $R^1NH-CS-NHR^2$ , y sus complejos de platino (II) actúan como agentes antitumorales. El presente trabajo informa acerca de la síntesis y caracterización de los ligantes aciltiourea (HL),  $PhCONH-CS-NR_2$ , y sus respectivos complejos de platino(II), *cis*- $PtL_2$  [ $NR_2$  = difenilamino y morfolino], y la evaluación de la actividad biológica frente a la línea celular adenocarcinoma mamario TA3 de ratón. Las estructuras moleculares de los complejos de platino(II) sintetizados muestran una geometría cuadrada plana con dos ligantes desprotonados coordinados al metal a través de los átomos oxígeno y azufre en una configuración *cis*. La actividad antitumoral de los complejos de platino(II) con ligantes aciltiourea fue evaluada *in vitro* frente a la línea celular de adenocarcinoma mamario TA3 de ratón. Los complejos estudiados exhibieron mayor actividad citotóxica que sus respectivos ligantes, siendo el complejo *cis*-bis(N-morfolin-N'-benzoyltioureato) platino(II), *cis*- $[Pt(L^2)_2]$ , el que mostró una mayor actividad citotóxica a bajas concentraciones micromolares ( $IC_{50} = 0.98 \mu M$ ). Este resultado indicó que el enlace del ligante al centro metálico incrementa su actividad antitumoral.

Palabras claves: Complejos de platino(II); Aciltiourea; Actividad citotóxica/antitumoral; Crecimiento celular.

One of the areas of bioinorganic chemistry that has had a great development in the last years is the use of coordination compounds for medical purposes. Thus, evidence exists that thiourea derivative ligands,  $R^1NH-CS-NHR^2$ , and their platinum(II) complexes act as antitumor agents. The present work inform about the synthesis and characterization of acylthiourea ligands (HL),  $PhCONH-CS-NR_2$  and the respective platinum(II) complexes, *cis*-  $PtL_2$  [ R = diphenylamine and morpholyne], and the evaluation of the biological activity against the mouse TA3 mammary adenocarcinoma cell line. The molecular structures of the synthesized platinum(II) complexes show a nearly square-planar geometry with two deprotonated ligands (L) coordinated to the metal through the oxygen and sulfur atoms in a *cis* configuration. The antitumor activity of the platinum(II) complexes with acylthiourea ligands was evaluated *in vitro* against the mouse TA3 mammary adenocarcinoma cell line. The studied complexes exhibited much higher cytotoxic activity than their respective ligands, being the *cis*-bis(N-morpholyn-N'-benzoyltioureato) platinum(II) complex,  $[Pt(L^2)_2]$ , the one that showed a high cytotoxic activity at low micromolar concentrations ( $IC_{50} = 0.98 \mu M$ ). This result indicated that the bounding of the ligands to metallic center increases its antitumor activity.

Keywords: Platinum(II) complexes; Acylthiourea; Antitumor / cytotoxic activity; Cell growth.

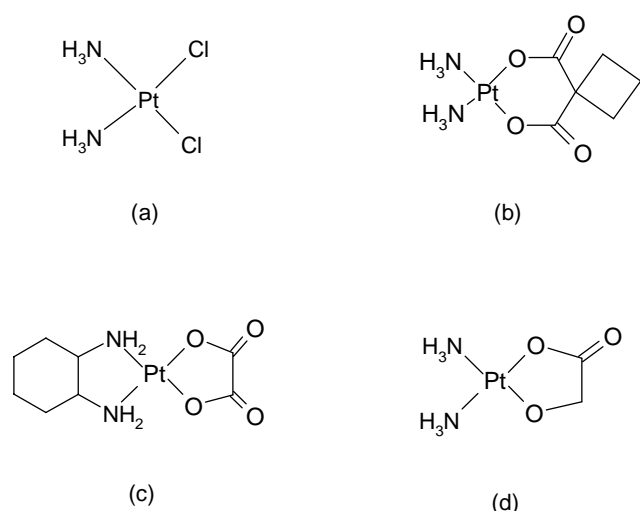
## 1. Introducción

El fármaco o complejo metálico, *cis*- $PtCl_2(NH_3)_2$ , conocido como el *Cisplatino* (Fig.1a), es un agente antineoplásico de uso clínico, altamente efectivo en el tratamiento de cánceres testicular y ovárico [1,2]. La eficiencia biológica del *Cisplatino* y sus análogos, carboplatino (1b), oxaliplatino (1c) y nedaplatino (1d) [3,4] como drogas antitumorales se debe a los cambios conformacionales resultados dentro de la doble hélice del ADN que originan la inhibición de la replicación del ADN y la transcripción del ARN, y producen finalmente la muerte celular [5-7]. A pesar de su eficacia en varias enfermedades neoplásicas, el *Cisplatino* tiene muchas desventajas debido a

la tendencia de los tumores a desarrollar resistencia y a su dosis limitada por causa de efectos colaterales, tales como nefrotoxicidad, neurotoxicidad y náusea [8,9].

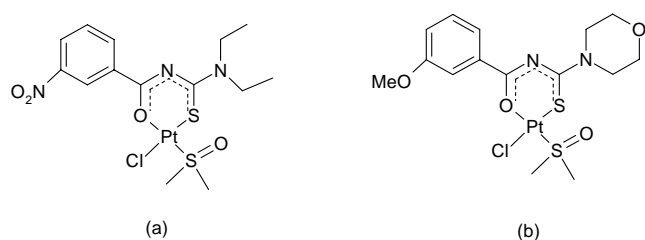
En este contexto, complejos de platino(II) del tipo  $[Pt(L)Cl(DMSO)]$  (L = ligante aciltiourea,  $R'-C(O)NHC(S)NR_2$ ;  $R' =$  fenilo,  $NR_2 =$  amina; DMSO = dimetilsulfóxido) fueron preparados por Sacht y col. para su evaluación química y biológica [10-12]. La aciltiourea después de la desprotonación del grupo amido (NHCO) puede actuar como un ligante orgánico con carga negativa, coordinando al metal a través de los átomos oxígeno y azufre. La facilidad de poder modificar los grupos funcionales R y R' para obtener un conjunto amplio de ligantes y complejos de platino(II) con diversas propiedades

físicas y químicas, hace atractiva la evaluación de este tipo de compuestos [13,14].



**Figura 1.** Complejos de  $Pt^{II}$  antitumorales de uso clínico.

Estudios de citotoxicidad realizados en la línea celular tumoral HeLa han mostrado que los complejos de platino(II) con ligantes N,N-Dietil-N'-(m-nitrobenzoil) tiourea y N-Morfolin-N'-(m-metoxibenzoil) tiourea, presentan un comportamiento citotóxico con efectos antiproliferantes, siendo éstos dependientes de la naturaleza o tipo de sustituyentes en el anillo fenilo o en la amina terminal del ligante aciltiourea (Figs. 2 a, b). Además, se han llevado a cabo estudios de interacción de los complejos  $[Pt(L)Cl(DMSO)]$  con polinucleótidos, tales como, ADN del timo de ternera (ct), poli[d(A-T)<sub>2</sub>] (AT) y poli[d(G-C)<sub>2</sub>] (GC), que revelaron cambios conformacionales en el ADN [15].



**Figura 2.** Complejos monoquelatos de platino(II) con ligantes aciltioureas.

Dedido a los antecedentes mencionados, el presente trabajo informa acerca de la síntesis, caracterización y evaluación de la actividad antitumoral de los ligantes aciltioureas y sus complejos de platino(II) ( $cis-[Pt(L^1)_2]$  y  $cis-[Pt(L^2)_2]$ ) utilizando como modelo células de adenocarcinoma mamario TA3 de ratón.

## 2. Experimental

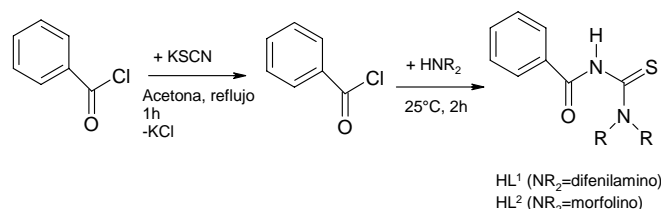
### Materiales y mediciones

El tetracloroplatinato(II) de potasio ( $K_2PtCl_4$ ) fue adquirido de la compañía Merck. Todos los demás reactivos

y solventes (Aldrich) fueron grado analítico y se usaron tal como se compraron, excepto la acetona que fue destilado antes de ser usado. El análisis elemental fue determinado en un microanizador elemental Fisons-Carlo Erba 1108. Los espectros infrarrojo (IR) fueron registrados en estado sólido (pastillas de KBr) en un espectrofotómetro Bruker FT-IR IFS 55 Equinox, en el rango de 4000 - 400  $cm^{-1}$ . Los espectros de RMN- $^1H$ ,  $^{13}C$  y  $^{195}Pt$  fueron registrados en un espectrómetro Bruker DRX 400 a 300 K usando  $CDCl_3$  como solvente. Los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) fueron medidos con respecto al tetrametilsilano (TMS) en el caso  $^1H$  y  $^{13}C$ , y con respecto al  $Na_2PtCl_6$  ( $\delta$  ( $^{195}Pt$ ) = 0 ppm) en el caso de los espectros RMN  $^{195}Pt$ . Los espectros de masa FAB(+) fueron obtenidos en un espectrómetro ZAB-HSQ (V.G. Analytical Ltd.).

### Síntesis de ligantes

Los ligantes N,N-difenil-N'-benzoiltiourea ( $HL^1$ ) y N-morfolin-N'-benzoiltiourea ( $HL^2$ ) fueron preparados de acuerdo con los métodos informados [16, 17] tal como se muestra en el Esquema 1.



**Esquema 1.** Síntesis de los ligantes  $HL^1$  y  $HL^2$

### N,N-difenil-N'-benzoiltiourea ( $HL^1$ )

Sólido de color amarillo pálido. Rend.: 90 %. Análisis Calculado para  $HL^1$ ,  $C_{20}H_{16}ON_2S$  (332.42 g/mol): C, 72.26%; H, 4.82%; N, 8.43%; S, 9.65%. Encontrado: C, 71.89%; H, 4.97%; N, 8.51%; S, 9.58%. IR (KBr,  $cm^{-1}$ ):  $\nu(N-H)$  3223  $cm^{-1}$  (m,br.),  $\nu(C=O)$  1692  $cm^{-1}$  (vs),  $\nu(C=S)$  1231 (vs). RMN- $^1H$  ( $CDCl_3$ ):  $\delta$  7.26, 7.37 (m, 10H,  $NPh_2$ ), 7.41 (d, 2 $H_{meta}$ , PhCO), 7.52 (t, 1 $H_{para}$ , PhCO), 7.59 (d, 2 $H_{orto}$ , PhCO), 8.69 (s, 1H, NH). RMN- $^{13}C$  ( $CDCl_3$ ):  $\delta$  127.2, 128.02 (12C,  $NPh_2$ ), 129.2, 129.7, 133.06, 133.3 (meta, orto, para, i, PhCO), 162.63 (C=O), 182.76 (C=S).

### N-morfolin-N'-benzoiltiourea ( $HL^2$ )

Cristales de color amarillo. Rend.: 87 %. Análisis Calculado para  $HL^2$ ,  $C_{20}H_{16}ON_2S$  (332.42 g/mol): C, 57.6%; H, 5.6%; N, 11.2%; S, 12.8%. Encontrado: C, 57.5%; H, 5.3%; N, 10.9%; S, 12.2%. IR (KBr,  $cm^{-1}$ ):  $\nu(N-H)$  3242  $cm^{-1}$  (s,br.),  $\nu(C=O)$  1666  $cm^{-1}$  (vs),  $\nu(C=S)$  1223 (m). RMN- $^1H$  ( $CDCl_3$ ):  $\delta$  3.82, 4.22 (br, 8H, CH<sub>2</sub>), 7.48 (d, 2 $H_{meta}$ , PhCO), 7.59 (t, 1 $H_{para}$ , PhCO), 7.83 (d, 2 $H_{orto}$ , PhCO), 8.75 (s, 1H, NH). RMN- $^{13}C$  ( $CDCl_3$ ):  $\delta$  50.5, 51.4, 65.2 (CH<sub>morf.</sub>), 126.9, 127.9, 131.2, 132.2 (meta, orto, para, i, PhCO), 162.4 (C=O), 178.3 (C=S).

## Síntesis de los complejos de platino(II)

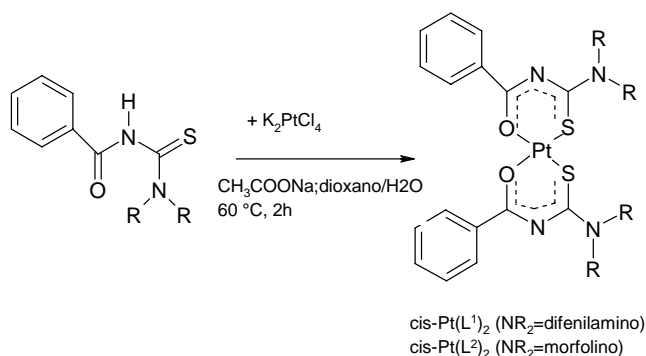
### cis-bis(N,N-difenil-N'-benzoíltioureato) platino(II), cis-[Pt(L<sup>1</sup>)<sub>2</sub>]

Una solución de K<sub>2</sub>PtCl<sub>4</sub> (0.10 g, 0.25 mmol) en agua (20 mL) fue adicionada gota a gota a una solución de HL<sup>1</sup> (0.429 g, 0.50 mmol) en dioxano (40 mL), seguido por acetato de sodio (0.041 g, 0.5 mmol) en agua (2 mL), y bajo agitación por 2 h a 60 °C. Luego, la mezcla de reacción fue agitada por 24 h a temperatura ambiente. El precipitado amarillo fue separado por filtración, lavado varias veces con pequeñas porciones de agua, etanol y secado en vacío. La recristalización del sólido amarillo a partir de diclorometano caliente produjo pequeños cristales de color amarillo pálido, los cuales fueron caracterizados por difracción de rayos X. Rendimiento: 58.0%. Análisis calculado para el complejo cis-[Pt(L<sup>1</sup>)<sub>2</sub>], C<sub>40</sub>H<sub>30</sub>O<sub>2</sub>N<sub>4</sub>S<sub>2</sub>Pt (857.10 g/mol): C, 55.4%; H, 3.8%; N, 6.6%; S, 7.3%. Encontrado: C, 56.0%; H, 3.50%; N, 6.5%; S, 7.5%. IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): ν(C=O) 1565 cm<sup>-1</sup> (w), ν(C=S) 1265 (w). MS-FAB(+) (matrix: 3-NBA): m/z 857.0 (M<sup>+</sup>, rel. int. 100%).

RMN-<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) δ 7.39 (m, 20H, NPh<sub>2</sub>), 7.9 (d, 2H<sub>para</sub>, 4H<sub>meta</sub>, PhCO), 8.1 (d, 4H<sub>ortho</sub>, PhCO). RMN-<sup>195</sup>Pt (CDCl<sub>3</sub>): -2583.6 ppm.

### cis-bis(N-morfolin-N'-benzoíltioureato) platino(II), cis-[Pt(L<sup>2</sup>)<sub>2</sub>]

La síntesis de este complejo metálico fue similar al procedimiento anterior, usando HL<sup>2</sup> (0.347 g, 0.50 mmol) y K<sub>2</sub>PtCl<sub>4</sub> (0.10 g, 0.25 mmol) con agitación a temperatura ambiente por 2 días. Rendimiento: 66.0%. Análisis calculado para el complejo cis-[Pt(L<sup>2</sup>)<sub>2</sub>], C<sub>24</sub>H<sub>26</sub>O<sub>4</sub>N<sub>4</sub>S<sub>2</sub>Pt (693.1 g/mol): C, 41.6%; H, 4.0%; N, 8.0%; S, 9.0%. Encontrado: C, 41.5%; H, 3.8%; N, 8.1%; S, 9.2%. IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): ν(C=O) 1585 cm<sup>-1</sup> (w), ν(C=S) 1225 (m). MS-FAB(+) (matrix: 3-NBA): m/z 693.0 (M<sup>+</sup>, int. rel. 100%). RMN-<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>): δ 3.79, 4.21 (br, 16H<sub>morf.</sub>), 7.44 (d, 4H<sub>meta</sub>, PhCO), 7.55 (d, 2H<sub>para</sub>, PhCO), 8.23 (d, 4H<sub>ortho</sub>, PhCO).



**Esquema 2.** Síntesis de los complejos de platino(II), cis-[Pt(L<sup>1</sup>)<sub>2</sub>] y cis-[Pt(L<sup>2</sup>)<sub>2</sub>].

## Determinación de las estructuras cristalinas

Todas las mediciones de monocristales por difracción de rayos X fueron llevadas a cabo en un difractómetro CCD SMART APEX equipado con un monocromador de grafito usando radiación MoKα (λ=0.71073 Å). Los datos fueron colectados a temperatura ambiente. Las estructuras fueron resueltas por métodos directos y refinados con respecto a F<sup>2</sup> (todos los datos, parámetros termales anisotrópicos para todos los átomos menos los hidrógenos, todos los hidrógenos fueron localizados y completamente refinados con parámetros termales isotrópicos) usando los programas SHELXS-97 y SHELXL-97. La colección de datos cristalinos y detalles del refinamiento para los complejos de platino(II), cis-[Pt(L<sup>1</sup>)<sub>2</sub>] y cis-[Pt(L<sup>2</sup>)<sub>2</sub>], se encuentran registrados en el Centro de Datos Cristalográficos de Cambridge.

## Evaluación biológica

### Cultivo de células tumorales

El adenocarcinoma mamario TA3 de ratón usado en este estudio fue obtenido a partir del fluido ascítico CAF 1 Jax de ratones. El cuál fue cultivado a 37 °C en medio Dulbecco modificado por Eagle (DMEM) (Sigma Chemical Co.) suplementado con suero fetal de bobino al 10% (FBS) (Difco, Detroit, MI), HEPES 25 mM, bicarbonato de sodio 44 mM, penicilina 100 U mL<sup>-1</sup> y estreptomycin 100 µg mL<sup>-1</sup>.

### Inhibición del crecimiento de la línea celular TA3

Para estos ensayos, 1.8 - 2.2 x 10<sup>5</sup> células / mL fueron sembradas en 20 mL de medio de cultivo durante 96 h. Después de 24 h del sembrado, para cada cultivo fue adicionado, tanto los ligantes HL<sup>1</sup> o HL<sup>2</sup> (20, 40, 60 y 200 µM) o sus complejos cis-[PtL<sub>2</sub>] (1, 5 y 10 µM) en DMSO. Cultivos en paralelo fueron usados como control. El número de células fue determinado usando una cámara de conteo Neubauer cada 24 h. Las concentraciones de cada compuesto fueron graficadas con respecto al porcentaje de supervivencia celular. Los valores de IC<sub>50</sub> fueron obtenidos por interpolación gráfica a las 48 h de tiempo de exposición en cada uno de los compuestos. Estos valores representan la concentración(µM) del fármaco requerida para inhibir al 50 % el crecimiento celular. Todos los ensayos fueron llevados a cabo por triplicado y repetido tres veces de manera independiente.

## 3. Resultados y discusión

### Síntesis y caracterización de los ligantes aciltiourea y sus complejos de platino(II)

Los ligantes aciltiourea, HL<sup>1</sup> y HL<sup>2</sup>, fueron preparados con altos rendimientos (87-90%) mediante la reacción de un cloruro de benzoílo con tiocianato de potasio en acetona,

seguido por la reacción del isotiocianato de benzofilo con la difenilamina o morfolina en acetona [16].

Los complejos de platino(II),  $cis\text{-Pt}(L^1)_2$  y  $cis\text{-Pt}(L^2)_2$ , se sintetizaron a partir de la reacción entre el respectivo ligante y una solución de  $K_2PtCl_4$  en dioxano-agua y empleando una solución de acetato de sodio como agente desprotonante [17].

### Espectros de Infrarrojo (IR)

En la obtención de los ligantes aciltioureas y sus complejos metálicos, la espectroscopia de infrarrojo fue un método muy útil para seguir el curso de las reacciones.

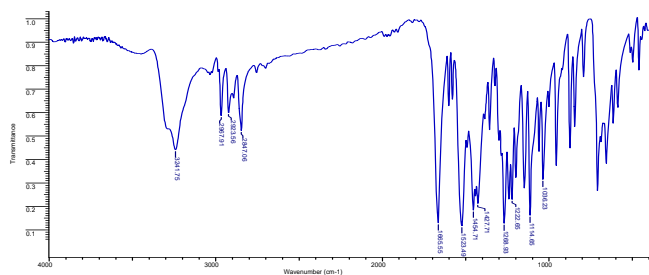


Figura 3. Espectro de IR del ligante  $HL^2$

En los espectros IR, las vibraciones asignadas al estiramiento N-H para los ligantes  $HL^1$  ( $3223\text{ cm}^{-1}$ ) y  $HL^2$  ( $3242\text{ cm}^{-1}$ , Fig. 3), desaparecen después de la formación del complejo metálico (Fig. 4), lo cual indica la desprotonación del grupo amido (NHCO) en los ligantes, originando una deslocalización electrónica entre los grupos carbonilo (C=O) y tiocarbonilo (C=S) que se manifiesta por el desplazamiento de las bandas de absorción a frecuencias menores o mayores con respecto a los espectros de los correspondientes ligantes. Las bandas de absorción intensa en los intervalos de  $1692 - 1666\text{ cm}^{-1}$  y  $1231\text{ cm}^{-1} - 1223\text{ cm}^{-1}$ , asignadas a las vibraciones  $\nu(C=O)$  y  $\nu(C=S)$ , respectivamente, para los ligantes  $HL^1$ - $HL^2$ , están desplazadas hacia frecuencias más bajas ( $1565\text{-}1585\text{ cm}^{-1}$ ,  $\nu(C=O)$ ) y hacia frecuencias más altas ( $1265\text{-}1225\text{ cm}^{-1}$ ,  $\nu(C=S)$ ) en la formación de los complejos bis-quelatos de platino(II),  $cis\text{-Pt}(L^1)_2 - cis\text{-Pt}(L^2)_2$ . Estos resultados indican que los ligantes desprotonados están coordinados al ion metálico a través de los átomos dadores oxígeno y azufre [18].

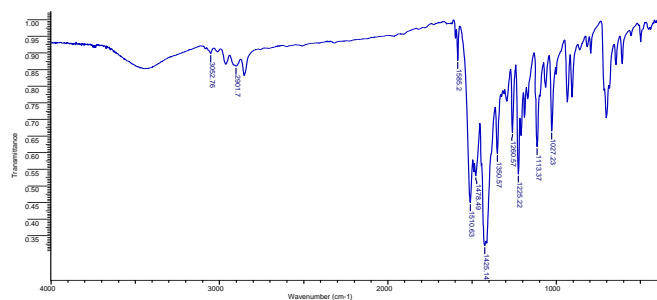


Figura 4. Espectro de IR del complejo  $cis\text{-Pt}(L^2)_2$

### Espectros de Resonancia Magnética Nuclear (RMN)

Las asignaciones de las resonancias de  $^1H$  y  $^{13}C$  para los ligantes y complejos de platino(II) fueron obtenidas a partir de los espectros de RMN- $^1H$  registrados en  $CDCl_3$  a 300 K. En los espectros de RMN- $^1H$  de los ligantes, la resonancia del grupo N-H que aparece alrededor de 8,69 y 8,75 ppm, para los ligantes  $HL^1$  (Fig. 5) y  $HL^2$ , respectivamente, desaparece en la formación de los complejos  $cis\text{-Pt}(L^1)_2$  (Fig. 6) y  $cis\text{-Pt}(L^2)_2$ . Los protones aromáticos *orto*, *meta* y *para*, del grupo benzofilo (-PhCO) no presentan cambios notables en los desplazamientos químicos entre los ligantes así como también entre sus complejos de Pt(II).

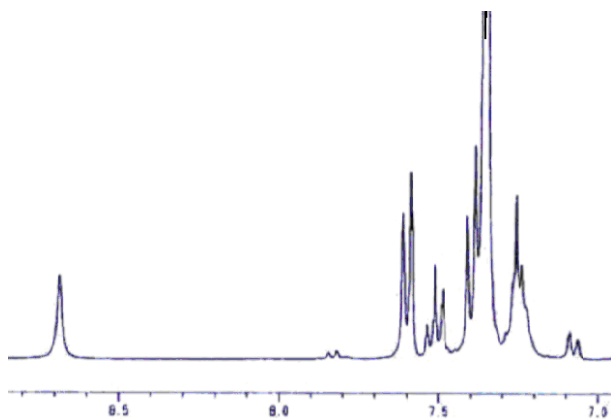


Figura 5. Espectro de RMN- $^1H$  del ligante  $HL^1$

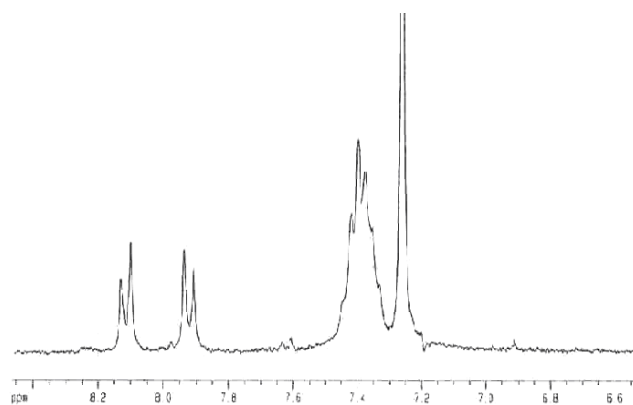
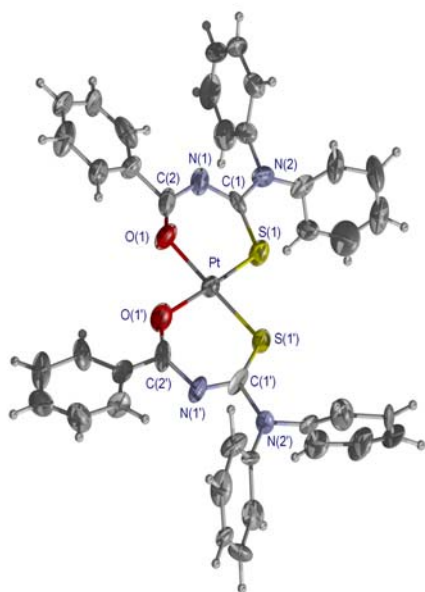


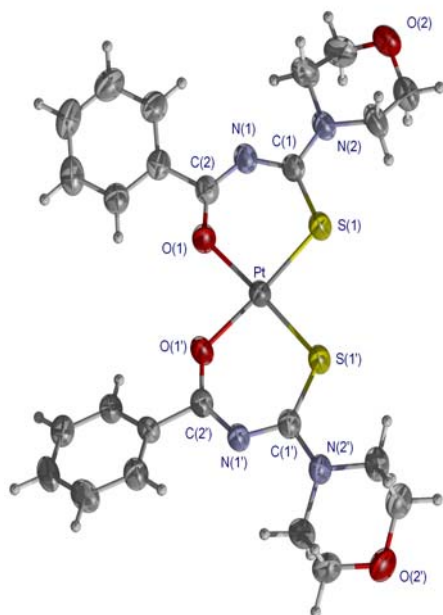
Figura 6. Espectro de RMN- $^1H$  del complejo  $cis\text{-Pt}(L^1)_2$

### Estructuras cristalinas

Las estructuras moleculares de los complejos de platino(II) (Figs. 7 y 8) determinadas por difracción de rayos X muestran que el ion  $Pt^{II}$  tiene una geometría cuadrada plana, donde dos ligantes desprotonados (L) están enlazados al ion metálico a través de los átomos oxígeno y azufre en una configuración *cis* (S-Pt-S), similar a los complejos de platino(II),  $cis\text{-[PtL}_2]$ , con ligantes N,N-dietil-N'-benzofiltiourea y N,N-di(n-butil)-N'-benzofiltiourea [19].



**Figura 7.** Estructura molecular del complejo  $cis\text{-Pt}(L^{1-2})_2$  sintetizado.



**Figura 8** Estructura molecular del complejo  $cis\text{-Pt}(L^2)_2$  sintetizado.

### Actividad Antitumoral

La actividad antitumoral *in vitro* de los ligandos aciltioureas y sus complejos de platino(II) preparados, fue evaluada en una línea celular derivada de adenocarcinoma mamario TA3 de ratón, después de 24 horas de haber sido sembradas a 37 °C [20]. Las células tumorales fueron incubadas por un período adicional total de 72 horas con cada uno de los ligandos (20-200  $\mu\text{M}$ ) ó sus respectivos complejos de  $\text{Pt}^{\text{II}}$  (1-10  $\mu\text{M}$ ).

La inhibición del crecimiento celular fue dependiente de la concentración y del tiempo de exposición de los ligandos

$\text{HL}^1$  y  $\text{HL}^2$ . El ligando  $\text{HL}^1$  con dos grupos fenilos en la amina terminal resultó ser más citotóxico ( $\text{IC}_{50}=35 \mu\text{M}$ ) que el ligando con un grupo morfolino en la amina terminal  $\text{HL}^2$  ( $\text{IC}_{50}=141\mu\text{M}$ ) y el ligando  $\text{HL}^3$ , N,N-dietil-N'-(p-nitrobenzoil)tiourea ( $\text{IC}_{50}= 40 \mu\text{M}$ ) [21]. Probablemente, la mayor citotoxicidad que presentó el ligando  $\text{HL}^1$  se debe al aumento de la lipofilidad de dicho compuesto y su mayor facilidad en el transporte a través de la membrana celular [22].

Los valores de  $\text{IC}_{50}$  calculados (Tabla 1) indican que el complejo  $cis\text{-Pt}(L^2)_2$  logró reducir la supervivencia celular al 50% a 0.98  $\mu\text{M}$ , concentración menor que la obtenida con los complejos  $cis\text{-Pt}(L^1)_2$  ( $\text{IC}_{50} = 2.8 \mu\text{M}$ ) y  $cis\text{-Pt}(L^3)_2$  [ $\text{HL}^3=\text{N,N-dietil-N'-(p-nitrobenzoil)tiourea}$ ,  $\text{IC}_{50} = 1.72 \mu\text{M}$ ] [21], y de concentración similar a la que presentó el cisplatino (1.3  $\mu\text{M}$ ) a las 48 horas de exposición. Este resultado indica que la participación del grupo morfolino como amina cíclica terminal en el complejo  $cis\text{-Pt}(L^2)_2$ , puede ser un factor importante en el grado de inhibición del crecimiento tumoral TA3. Probablemente, los complejos de platino(II),  $cis\text{-Pt}(L^1)_2$  y  $cis\text{-Pt}(L^2)_2$  sintetizados, de geometría cuadrada plana puedan actuar como agentes intercalantes entre las bases pareadas del ADN celular, provocando cambios conformacionales en la doble hélice del ADN que producen finalmente, la muerte celular [6, 7].

**Tabla 1.** Citotoxicidad *in vitro* de los ligandos y sus complejos de  $\text{Pt}^{\text{II}}$  en la línea celular TA3 de ratón.

Compuesto	$\text{IC}_{50}$ ( $\mu\text{M}$ ) <sup>a</sup>
$\text{HL}^1$	$34.90 \pm 1.43$
$\text{HL}^2$	$141.35 \pm 2.43$
$cis\text{-Pt}(L^1)_2$	$2.80 \pm 0.32$
$cis\text{-Pt}(L^2)_2$	$0.98 \pm 0.11$
Cisplatino <sup>b</sup>	$1.30 \pm 0.20$

<sup>a</sup> $\text{IC}_{50}$  corresponde a la concentración requerida para inhibir al 50% el crecimiento celular cuando las células son expuestas a los compuestos durante 48 horas. Cada valor es el promedio  $\pm$  la desviación estándar de tres experimentos independientes, cada uno realizado por triplicado.

<sup>b</sup>el Cisplatino ( $cis\text{-PtCl}_2(\text{NH}_3)_2$ ) fue usado como compuesto de referencia.

### 4. Conclusiones

Las estructuras moleculares de los complejos de platino(II),  $cis\text{-Pt}(L^1)_2$  y  $cis\text{-Pt}(L^2)_2$ , muestran una geometría cuadrada plana con dos ligandos desprotonados (L) enlazados al ion  $\text{Pt}^{\text{II}}$  a través de los átomos oxígeno y azufre en una configuración *cis*.

Los complejos de platino(II) mostraron una mayor citotoxicidad con respecto a los ligandos, sobre el crecimiento de las células tumorales TA3. El complejo  $cis\text{-Pt}(L^2)_2$  con grupo morfolino en su ligando resultó ser más activo que el complejo  $cis\text{-Pt}(L^1)_2$ . Este resultado puede ser importante en el transporte del metal al ADN de células tumorales TA3.

-Los resultados obtenidos en este trabajo hace pensar que el mecanismo de acción de los complejos de  $\text{Pt}^{\text{II}}$  sería diferente

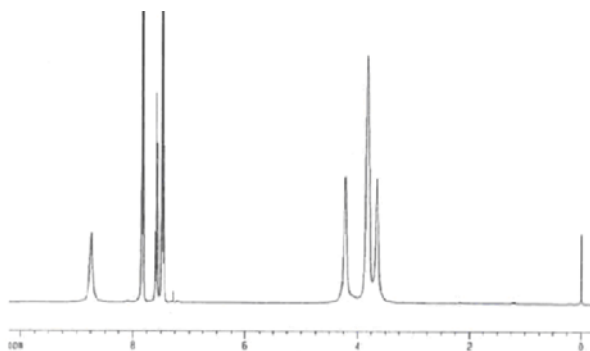
al que presenta el cisplatino. Los complejos  $cis\text{-Pt(L}^1\text{)}_2$  y  $cis\text{-Pt(L}^2\text{)}_2$  no sufrirían el proceso de hidrólisis como el cisplatino, con lo cual el ion metálico no podría formar complejos metálicos con los átomos de nitrógeno (N7) de las bases guaninas adyacentes en la cadena polinucleotídica del ADN.

## Agradecimientos

Wilfredo Hernández agradece al Servicio de Intercambio Académico del Gobierno Alemán (DAAD) por la beca doctoral A/01/176226 otorgada para realizar mis estudios de Doctorado en Química en la Universidad de Chile. De igual manera, agradezco al departamento de Post-grado de la Universidad de Chile (PG/91) por la ayuda económica brindada para la culminación de este trabajo.

## Apéndice A

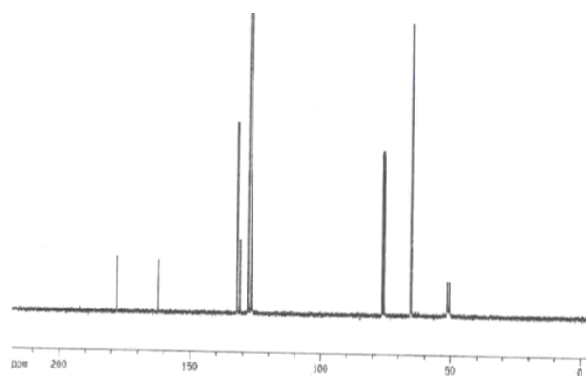
Espectro de RMN- $^1\text{H}$  del ligante N-morfolin-N'benzoiltiourea (HL $^2$ )



## Apéndice B

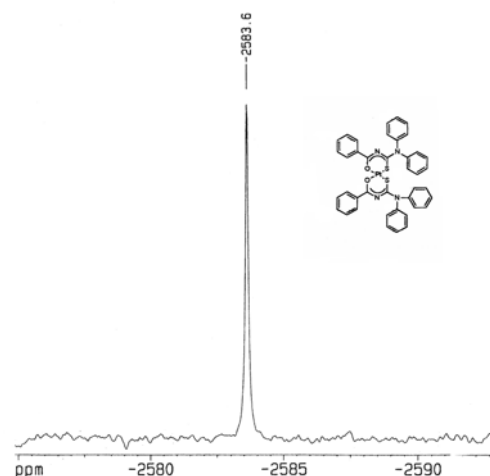
1. B. Rosenberg, L. van Camp, J. Krosko y V. Mansour, *Nature*, 222 (1969) 385.
2. M. Nicolini y L. Sindellari. *Lectures in bioinorganic chemistry* (Cortina Raven, Italia, 1991).
3. B. Keppler, *Metal Complexes in Cancer Chemotherapy* (VCH, Alemania, 1993).
4. L. R. Kelland, S.J. Clarke y M.J. Mckeage, *Platinum Met. Rev.*, 36 (1992) 178.
5. S. Bruhn, J. Toney y S. Lippard, *Prog. Inorg. Chem.*, 38 (1991) 477.
6. E. Jamieson y S. Lippard, *Chem. Rev.*, 99 (1999) 2467.
7. J. Hickman, *Cancer Metastasis Rev.*, 11 (1992) 121.
8. N. Madias y J. Harrington, *Am. J. Med.*, 65 (1978) 307.
9. M. Kartalou y J. Essigmann, *Mutat. Res.*, 478 (2001) 1.
10. U. Bierbach, J. Roberts y N. Farrell, *Inorg. Chem.*, 37 (1998) 717.
11. E. Martins, H. Baruah, J. Kramarczyk, G. Saluta, C. Day, G. Kucera y U. Bierbach, *J. Med. Chem.*, 44 (2001) 4492.
12. C. Sacht, M. Datt, S. Otto y A. Roodt, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, (2000) 727.

Espectro de RMN- $^{13}\text{C}$  del ligante N-morfolin-N'benzoiltiourea (HL $^2$ )



## Apéndice C

Espectro de RMN- $^{195}\text{Pt}$  del complejo  $cis\text{-bis(N,N-difenil-N'-benzoiltioureato) platino(II)}$ , ( $cis\text{-[Pt(L}^1\text{)}_2]$ ).



13. L. Beyer, E. Hoyer, H. Henning y R. Kirmse, *J. prakt. Chem.*, 377 (1975) 829.
14. R. Richter, L. Beyer y J. Kaiser, *Z. anorg. allg. Chem.*, 461 (1980) 67.
15. A. Rodger, K. Patel, K. Sanders, M. Datt, C. Sacht y M. Hannon, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, (2002) 3656.
16. H. Hartmann y I. Reuther, *J. Prakt. Chem.*, 315 (1973) 144.
17. L. Beyer, E. Hoyer, L. Liebscher y H. Hartmann, *Z. Chem.*, 21 (1980) 81.
18. W. Hernández, E. Spodine, Karl-Heinz Hallmeier, R. Richter, U. Schröder y L. Beyer, *Z. Anorg. Allg. Chem.*, 629 (2003) 2559.
19. K.R. Koch, A. Irving y M. Matoetoe, *Inorg. Chim. Acta*, 206 (1993) 193.
20. J. Ferreira, L. Coloma, E. Fones, M. Letelier, Y. Repetto, A. Morello y J. Aldunate, *FEBS Lett.*, 234 (1988) 485.
21. W. Hernández, J.C. Muñoz, E. Spodine, U. Schröder, L. Beyer, M. Pavani y J. Ferreira, *Bioinorg. Chem. Appl.*, 1 (2003) 271.
22. M. Merino, J. Carbajo, L. Nuñez y J. Squella, *Bol. Soc. Chil. Quím.*, 45 (2000) 9.