

Diseño de Fármacos Anticancerosos Derivados de *cis*-Platino(II) mediante la técnica QSAR, basada en el Funcional de la Densidad

Jesús M. López, Adolfo E. Ensuncho y Juana R. Robles

Universidad de Córdoba, Departamento de Química, Grupo de Química Computacional, Cra. 6 N° 74-103, Córdoba-Colombia (e-mail: jmanuellopez.gqc@gmail.com, adem9abril@hotmail.com, juanarobles2003@yahoo.com)

Recibido May. 17, 2013; Aceptado Jul. 19, 2013; Versión final recibida Sep. 19, 2013

Resumen

Se estudiaron las actividades citotóxicas de una serie de complejos derivados de *cis*-platino(II) contra las líneas celulares cancerosas HeLa y HL-60, mediante el análisis de las relaciones cuantitativas estructura-actividad (QSAR, por sus siglas en inglés). Se usaron índices mecanocuánticos de la reactividad basados en la teoría del funcional de la densidad. Los modelos QSAR se ajustaron a la estadística estándar con valores de $R^2 > 0.8$ y $r^2_{VC} > 0.6$ respectivamente. Se encontró que la inclusión de los efectos del solvente y la aplicación de la técnica *jackknife* mejoraron sustancialmente la calidad estadística y habilidad predictiva de los modelos de regresión. Los valores predichos de actividad citotóxica (IC_{50}), mostraron la potencialidad antitumoral de los nuevos complejos propuestos, siendo comparables a valores experimentales reportados para complejos de estructura química similar. El trabajo muestra la utilidad de los descriptores mecanocuánticos de la reactividad en la predicción de la actividad biológica de los complejos estudiados.

Palabras clave: actividad citotóxica, QSAR, descriptores globales, fármacos antitumorales, *cis*-platino

Design of Anticancer Drugs of *cis*-Platinum(II) Derivatives by QSAR Technique based on Density Functional Theory

Abstract

Cytotoxic activities of *cis*-platino(II) complexes against cancer cell lines HeLa and HL-60 were studied using quantitative structure-activity relationship (QSAR) analysis. Global and local reactivity descriptors based on the density functional theory were used. QSAR models were fitted to standard statistics with $R^2 > 0.8$ and $r^2_{VC} > 0.6$ respectively. It was found that the incorporation of solvent effects and the use of the *jackknife* technique substantially increased the statistical quality and the predictive ability of the regression models. Predicted values of cytotoxic activity (IC_{50}) showed the anticancer potentiality of the new proposed complex being similar to reported experimental values for complexes of similar chemical structure. This work demonstrates the usefulness of the reactivity descriptors to predict biological activity of the complexes studied.

Keywords: cytotoxic activity, QSAR, global descriptor, anticancer drug, *cis*-platinum

INTRODUCCIÓN

Actualmente, el fármaco anticanceroso cisplatino se ha consolidado como un paradigma en el tratamiento de tumores testiculares y ováricos (Gómez-Ruiz et al., 2012). De igual manera, es efectivo contra cáncer de cabeza, vejiga, cuello uterino y pulmón de célula pequeña (Go y Adjei, 1999; Gómez-Ruiz et al., 2012). Sin embargo, la quimioterapia con este fármaco induce severos efectos colaterales en los pacientes bajo tratamiento por lo que su aplicación farmacológica se ha restringido considerablemente (Barabas et al., 2008). Por otra parte, algunos tumores han mostrado resistencia intrínseca o adquirida frente a cisplatino (Borst et al., 2008). En razón a lo anterior, durante los últimos cuarenta años se han sintetizado y ensayado nuevos compuestos derivados de platino; aunque pocos han mostrado propiedades superiores al fármaco de referencia (Abu-Surrah, 2007).

Dentro de las nuevas aproximaciones orientadas hacia el diseño racional de fármacos antitumorales basados en platino, el uso de moléculas biológicamente activas como ligandos, ha llamado la atención de la comunidad científica (Dalla Via et al., 2006; Moradell et al., 2003; Moradell et al., 2004), debido a que estas moléculas exhiben ciertas ventajas sobre cisplatino, entre las cuales cabe destacar un incremento de la actividad biológica y menor toxicidad hacia las células no cancerosas (Moradell et al., 2004). Se ha encontrado que los aminoácidos y sus derivados dan resultados interesantes en cuanto a especificidad y actividad biológica (Dalla Via et al., 2006).

Recientemente, nuestro grupo de investigación reportó el estudio computacional de la reactividad química para un grupo de complejos derivados de cisplatino con ligandos aminoácidos (figura 1A), usando descriptores globales y locales de la reactividad (López et al., 2013b). El estudio mostró, que los índices moleculares de la reactividad constituyen una valiosa herramienta para racionalizar el diseño de nuevos agentes con potencialidad antitumoral que aun no han sido sintetizados ni ensayados (figura 1B). No obstante, mediante el cálculo de los índices de la reactividad, solamente se tiene acceso a descripciones cualitativas del comportamiento reactivo de los complejos y por ende no es posible desarrollar un estudio sistemático y cuantitativo de su actividad biológica.

En consecuencia, se hace necesario adoptar un esquema metodológico complementario entre cálculos de estructura electrónica y actividad biológica determinada experimentalmente en complejos de platino, con el fin de establecer relaciones cuantitativas estructura-actividad de las moléculas investigadas. En este contexto, el modelado de las relaciones cuantitativas estructura-actividad (QSAR, por sus siglas en inglés) usando descriptores derivados de la teoría del funcional de la densidad (DFT, por sus siglas en inglés) ofrece una excelente alternativa para avanzar en el conocimiento de las propiedades reactivas (actividad biológica) de estas moléculas y su potencialidad antitumoral.

En la literatura científica, hay muchos reportes QSAR mostrando la importancia de los índices mecanocuánticos de reactividad para describir la toxicidad y actividad biológica en moléculas orgánicas (Padmanabhan et al., 2006a; Padmanabhan et al., 2006b; Padmanabhan et al., 2006c; Roy et al., 2005). Aunque la investigación de moléculas orgánicas mediante la técnica QSAR es prolífica, este no es el caso para los complejos de coordinación, donde los reportes son escasos; especialmente para cisplatino y sus derivados (Sarmah y Deka, 2008; Sarmah y Deka, 2009;).

En el presente estudio, se encontró que los descriptores de la reactividad derivados de la DFT, en particular la filicidad (w_k), el descriptor atómico ($(sf)_k^\alpha$) de Kollandaivel (Kollandaivel et al., 2005) y los descriptores atómicos de filicidad (wf_k^α), y de grupo ($(sf)_g^\alpha$), recientemente propuestos por López y colaboradores (López et al., 2013b), fueron de gran utilidad para predecir la actividad biológica de los complejos de platino mostrados en la figura 1.

METODOLOGÍA

Detalles Computacionales

El cálculo de la estructura electrónica de metales de transición requiere el tratamiento de la correlación electrónica; en este sentido, la DFT ofrece una alternativa a los métodos post Hartree-Fock (Engel y Dreizler, 2011). Así, para calcular los índices moleculares de la reactividad se usó el funcional de Adamo y Barone (Adamo y Barone, 1998) mPW1PW en combinación con la base LANL2DZ aumentada con una función de polarización d, de exponente $\alpha = 0,0747$ para el átomo de platino (designada como LANL2DZ*) y la base doble ζ polarizada 6-31G(d) para el resto de átomos (Jensen, 2006). En manuscritos previos, se mostró la superioridad del protocolo mPW1PW/LANL2DZ* sobre otros funcionales de la densidad para determinar la geometría y estructura electrónica de complejos de platino (López et al., 2013a; López et al., 2013b). Los efectos del solvente se incorporaron a través del modelo de solvente del continuo polarizado (PCM, por sus siglas en inglés) (Tomasi et al., 2005).

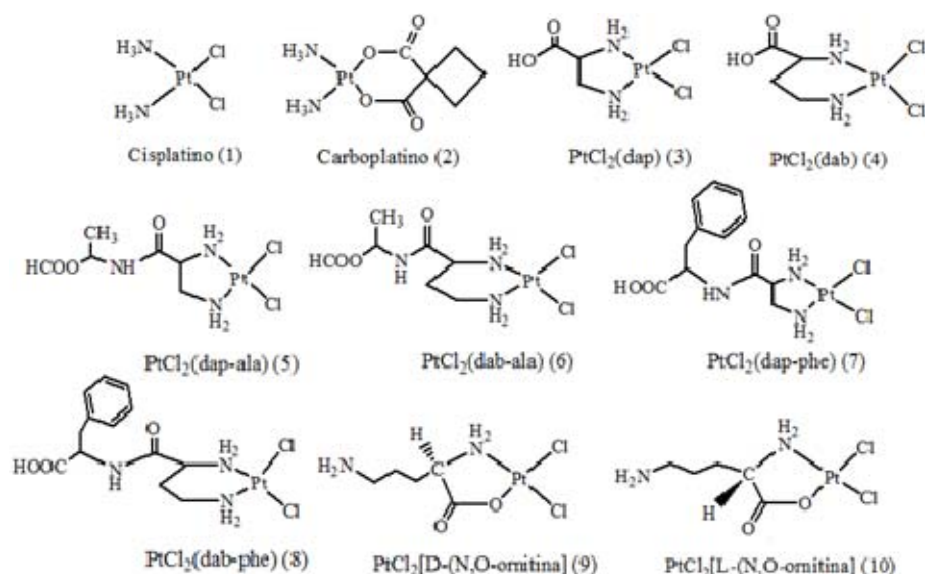


Fig.1a

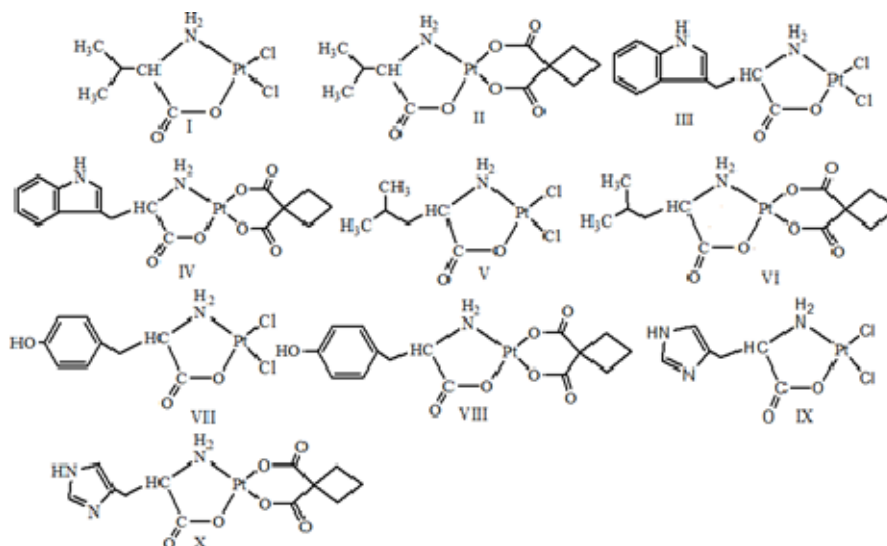


Fig.1b

Fig. 1: Estructuras de los complejos estudiados. Fig. 1a) Derivados de *cis*-platino(II) con ligandos aminoácidos; Fig. 1b) Complejos derivados de *cis*-platino(II) propuestos

Los descriptores globales de la reactividad tales como; el potencial químico electrónico (μ), la dureza (η) y la suavidad (S) en aproximaciones numéricas basadas en el método de diferencias finitas y el teorema de Koopmans (Martínez-Araya et al., 2013) se pueden calcular a través de las siguientes expresiones:

$$\mu \approx -\frac{1}{2}(EI + AE) = \frac{1}{2}(\epsilon_L + \epsilon_H) \quad (1)$$

$$\eta \approx -\frac{1}{2}(EI - AE) = \frac{1}{2}(\epsilon_L - \epsilon_H) \quad (2)$$

$$S = \frac{1}{2\eta} \quad (3)$$

Donde, EI es la energía de ionización, AE es la afinidad electrónica, ϵ_H y ϵ_L son las energías del orbital molecular más alto ocupado (HOMO, por sus siglas en inglés) y el orbital molecular más bajo desocupado (LUMO, por sus siglas en inglés) respectivamente.

El índice de electrofilicidad (Chattaraj y Giri, 2009), está definido como se muestra en la siguiente ecuación:

$$W = \frac{\mu^2}{2\eta} \quad (4)$$

Donde, μ es el potencial químico electrónico y η la dureza.

Para definir los descriptores locales usados en este trabajo, se tuvo en cuenta que el mecanismo de unión de platino a su diana biológica; el ADN, involucra un ataque nucleofílico sobre este último (Gómez-Ruiz et al., 2012). De modo que, los índices locales se definieron en función de dicho ataque. La función de Fukui condensada (Méndez y Gazquez, 1994) para el ataque nucleofílico viene dada por:

$$f_k^+ = q_k(N+1) - q_k(N) \quad (5)$$

$q_k(N+1)$, es la población atómica del electrón en el átomo k , para el sistema aniónico y $q_k(N)$ es la población atómica del electrón en el átomo k del sistema neutro. Para calcular la función de Fukui se usó el análisis de población de Hirshfeld (Hirshfeld, 1977) (HPA, por sus siglas en inglés). La filicidad (Chattaraj et al., 2003) se calculó mediante:

$$w_k^+ = f_k^+ W \quad (6)$$

Donde, f_k^+ es la función de Fukui para el ataque nucleofílico y W , el índice de electrofiliidad. La suavidad local (Vivas-Reyes et al., 2008) viene dada por la siguiente ecuación:

$$s_k^+ = f_k^+ S \quad (7)$$

Donde, f_k^+ es la función de Fukui para el ataque nucleofílico y S , la suavidad global. El descriptor atómico de Kolandaivel y colaboradores (Kolandaivel et al., 2005) para el ataque nucleofílico se define como:

$$(sf)_k^+ = (f_k^+)^2 S \quad (8)$$

Donde, s_k^+ , es la suavidad local, S la suavidad global y f_k^+ es la función de Fukui, como se encuentra definida en la ecuación (5). Finalmente, los descriptores atómicos de filicidad y grupo (López et al., 2013b), se calcularon mediante las siguientes ecuaciones:

$$(wf)_k^+ = (f_k^+)^2 W \quad (9)$$

Donde, w_k^+ , es la filicidad, W , el índice de electrofiliidad y f_k^+ es la función de Fukui, como se encuentra definida en la ecuación (5).

$$(sf)_g^+ = \sum_{k=1}^n (sf)_k^+ \quad (10)$$

Donde n , corresponde al número de átomos vecinos al centro de reacción (átomo de Pt).

Modelado QSAR

Para construir los modelos QSAR, se llevaron a cabo análisis de regresión lineal múltiple usando el método de estimación de error por mínimos cuadrados del paquete estadístico SAS-9.1 (SAS Institute, 2005). Se seleccionaron cuatro parámetros QSAR como variable independiente y la actividad citotóxica (IC_{50}) reportada por Moradell (Moradell et al., 2003; Moradell et al., 2004) y Dalla Via (Dalla Via et al., 2006) contra las líneas celulares cancerosas HeLa (carcinoma de cuello uterino) y HL-60 (leucemia promielocítica) de los complejos investigados como variable dependiente. La selección del número de variables independientes se realizó a través de la utilidad "selección paso a paso" del paquete estadístico SAS-9.1 (SAS Institute, 2005). Los datos de IC_{50} , se expresaron como el $\log(IC_{50}^{-1})$, dada su conveniencia en el análisis de regresión lineal (Monti et al., 2005). Los modelos QSAR se determinaron en fase gaseosa y acuosa. La habilidad predictiva de los modelos se determinó usando el método de validación cruzada dejando uno fuera (LOO, por sus siglas en inglés) (Kiralj y Ferreira, 2009).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1, se presentan los parámetros usados para construir los modelos QSAR en fase gaseosa y acuosa de los 10 complejos investigados (figura 1A).

Tabla 1: Parámetros usados para la construcción de los modelos QSAR en fase gaseosa y acuosa calculados al nivel mPW1PW/LANL2DZ*

Complejos	log(IC ₅₀ ⁻¹)		Fase gaseosa		Fase acuosa		
	HeLa	HL-60	w ⁺ _k (eV)	(wf) ⁺ _k (eV)	w ⁺ _k (eV)	(sf) ⁺ _k (eV)	(sf) ⁺ _g (eV)
1	-0,398	-0,398	-0,689	0,167	-0,944	0,033	0,052
2	-1,813	-1,477	-0,115	0,006	-0,633	0,030	0,049
3	-2,217	-2,204	-0,457	0,072	-0,923	0,030	0,040
4	-2,332	-1,978	-0,451	0,080	-0,869	0,028	0,038
5	-2,204	-1,954	-0,340	0,046	-0,846	0,028	0,038
6	-1,778	-2,114	-0,375	0,060	-0,854	0,028	0,038
7	-2,525	-2,531	-0,262	0,027	-0,895	0,030	0,039
8	-2,643	-2,519	-0,268	0,030	-0,856	0,028	0,038
9	-1,699	-1,845	-0,900	0,196	-1,418	0,043	0,049
10	-2,097	-2,090	-0,863	0,171	-1,402	0,044	0,051

Los índices locales de reactividad para todos los complejos se determinaron mediante las ecuaciones mostradas en la sección de los detalles computacionales, siguiendo el procedimiento indicado por López y colaboradores (López et al., 2013b). Los valores de IC₅₀ seleccionados para el estudio y reportados por Moradell y colaboradores (Moradell et al., 2003; Moradell et al., 2004) para las líneas celulares cancerosas, correspondieron a un tiempo de exposición del fármaco de 72 horas.

Análisis QSAR sobre las líneas celulares cancerosas HeLa y HL-60 en fase gaseosa y acuosa

Las ecuaciones 11, 12, 13 y 14, muestran los modelos QSAR y los parámetros estadísticos determinados para las líneas celulares HeLa y HL-60 de los 10 complejos de platino estudiados en fase gaseosa y acuosa.

HeLa (fase gaseosa):

$$\log(\text{IC}_{50}^{-1}) = -0,867 (\pm 0,318) + 10,676 (\pm 1,974) w_k^+ + 46,014 (\pm 7,662) (wf)_k^+ \quad (11)$$

n = 10; R² = 0,866; r_{VC}² = 0,698; F = 22,59; p < 5%; s = 0,264

HL-60 (fase gaseosa):

$$\log(\text{IC}_{50}^{-1}) = -0,600 (\pm 0,311) + 11,350 (\pm 1,932) w_k^+ + 47,331 (\pm 7,499) (wf)_k^+ \quad (12)$$

n = 10; R² = 0,863; r_{VC}² = 0,653; F = 22,01; p < 5%; s = 0,258

HeLa (fase acuosa):

$$\log(\text{IC}_{50}^{-1}) = -5,539 (\pm 0,687) - 6,184 (\pm 1,823) w_k^+ - 381,912 (\pm 97,407) (sf)_k^+ + 227,689 (\pm 40,837) (sf)_g^+ \quad (13)$$

n = 10; R² = 0,867; r_{VC}² = 0,716; F = 12,92; p < 5%; s = 0,284

HL-60 (fase acuosa):

$$\log(\text{IC}_{50}^{-1}) = -5,239 (\pm 0,476) - 5,004 (\pm 1,263) w_k^+ - 342,367 (\pm 67,479) (sf)_k^+ + 219,033 (\pm 28,285) (sf)_g^+ \quad (14)$$

n = 10; R² = 0,913; r_{VC}² = 0,379; F = 27,13; p < 5%; s = 0,197

Donde R², es el coeficiente de regresión múltiple, r_{VC}², el coeficiente de correlación de la validación cruzada dejando uno fuera, F, es la prueba F de Fischer, p es la probabilidad del estadístico calculado o valor-p y s, la desviación estándar del análisis de regresión. Los valores encerrados en paréntesis corresponden a los errores estándar de los coeficientes obtenidos por regresión para cada ecuación QSAR. En general, un modelo de regresión es significativo si el coeficiente de regresión R² > 0,8 (Ye et al., 2009); la probabilidad es menor de 5% (Cho et al., 2001) y los valores de desviación estándar son pequeños, dado que la tendencia de este valor a cero implica mayor confianza en la predicción. Sin embargo, de acuerdo con la estadística estándar, un modelo con R² > 0,80 y r_{VC}² > 0,6 también se puede considerar como aceptable (Wold, 1991; Yao et al., 2003). En consecuencia, nuestros modelos QSAR presentan buena calidad estadística y por ende capacidad predictiva en ambas fases. Para la fase gaseosa, se encontró que solo dos variables independientes son capaces de predecir la actividad citotóxica, mientras que en la fase acuosa se requieren tres variables. De modo que, los coeficientes de regresión múltiple en las ecuaciones 11 y 12, indican que la variabilidad en la actividad biológica (logIC₅₀⁻¹) es explicada por los descriptores w⁺_k y (wf)⁺_k en un 86,60% para HeLa y 86,30% para HL-60 respectivamente.

Análogamente, las ecuaciones 13 y 14 muestran que la variación de $\log(\text{IC}_{50}^{-1})$ se encuentra explicada por los descriptores w_k^+ , $(\text{sf})_k^+$ y $(\text{sf})_g^+$ en un 86,70% y 91,30% para las líneas celulares cancerosas HeLa y HL-60 respectivamente. Por lo tanto, este grupo de índices de reactividad pueden usarse efectivamente para predecir la actividad citotóxica de complejos de *cis*-platino(II). Además, se observa que la incorporación del efecto del solvente desempeña un papel importante en el análisis QSAR, ya que incrementa la capacidad predictiva de los modelos.

Algunas consideraciones adicionales para el establecimiento de ecuaciones QSAR con calidad estadística y predictiva, se relacionan con el número de variables independientes a incluir en el modelo matemático. La cantidad de variables que se utilicen en el análisis debe cumplir con la regla práctica QSAR, donde debe haber al menos cinco datos experimentales por descriptor usado, ya que la cantidad excesiva de variables en una ecuación de regresión puede restar valor predictivo al modelo. En este sentido, los modelos en fase gaseosa cumplen con la regla QSAR, mientras que los modelos en fase acuosa no siguen este paradigma. Sin embargo, Kubinyi (Kubinyi, 2004) sugiere que modelos QSAR robustos, aquellos con calidad estadística y por lo tanto capacidad de predicción, pueden ser eficientemente explorados al introducir más parámetros. En nuestro caso, los modelos en fase acuosa son consecuentes con esta idea.

Aplicación de la Técnica *jackknife*

Si bien, los modelos de regresión son estadísticamente aceptables, las ecuaciones QSAR pueden mejorarse para obtener mayor significación y calidad estadística. A este propósito, con el fin de mejorar la calidad global de los modelos, seguimos el esquema implementado por Dietrich y colaboradores (Dietrich et al., 1980), habitualmente conocido como la técnica *jackknife*, en la cual un compuesto es considerado como un valor atípico (el anglicismo *outlier*), si el valor de R^2 (que de ahora en adelante designaremos como $r_{\text{jackknife}}^2$) que se obtiene a partir del análisis de regresión después de eliminar dicho compuesto, es comparativamente más alto que otros valores de $r_{\text{jackknife}}^2$. Los valores de $r_{\text{jackknife}}^2$ calculados en la fase gaseosa y acuosa se presentan en la tabla 2.

Tabla 2: Valores de $r_{\text{jackknife}}^2$ calculados en fase gaseosa y acuosa

Complejo	Fase gaseosa ($r_{\text{jackknife}}^2$)		Fase acuosa ($r_{\text{jackknife}}^2$)	
	HeLa	HL-60	HeLa	HL-60
1	0,541	0,525	0,449	0,772
2	0,865	0,865	0,867	0,939
3	0,879	0,870	0,867	0,936
4	0,896	0,863	0,868	0,939
5	0,874	0,900	0,865	0,949
6	0,899	0,864	0,966	0,937
7	0,856	0,866	0,853	0,931
8	0,879	0,879	0,888	0,954
9	0,890	0,908	0,876	0,938
10	0,873	0,888	0,875	0,933

De la tabla 2, se observa que en la fase gaseosa los complejos 4, 6, 5 y 9, exhiben los valores más altos de $r_{\text{jackknife}}^2$ con respecto a los demás complejos, mientras que en la fase acuosa corresponden a los complejos 6, 8, 5 y 8 respectivamente, de modo que, pueden ser considerados como *outliers* en cada línea celular cancerosa. Los modelos obtenidos del análisis de regresión, luego de eliminar los compuestos *outliers* se presentan en las ecuaciones 15, 16, 17 y 18 respectivamente. Si observamos los modelos después de aplicar la técnica *jackknife*, se hace evidente el incremento global en su calidad y significación estadística. Aunque los modelos QSAR que se determinaron antes de aplicar la técnica *jackknife*, mostraron una calidad estadística aceptable y revelaron la utilidad de los índices de reactividad en la predicción de la actividad biológica de los complejos investigados, *jackknife*, da una perspectiva más clara en la construcción de modelos, dado que se obtiene mayor significación estadística y valor predictivo.

HeLa (fase gaseosa):

$$\log(\text{IC}_{50}^{-1}) = -0,873(\pm 0,282) + 10,685(\pm 1,726)w_k^+ + 46,213(\pm 6,703)(\text{wf})_k^+ \quad (15)$$

$n = 8; R^2 = 0,923; r_{\text{VC}}^2 = 0,791; F = 30,00; p < 5\%; s = 0,231$

HL-60 (fase gaseosa):

$$\log(\text{IC}_{50}^{-1}) = -0,698(\pm 0,235) + 11,616(\pm 1,452)w_k^+ + 50,076(\pm 5,673)(\text{wf})_k^+ \quad (16)$$

$n = 8; R^2 = 0,946; r_{\text{VC}}^2 = 0,776; F = 43,790; p < 5\%; s = 0,191$

HeLa (fase acuosa):

$$\log(\text{IC}_{50}^{-1}) = -5,798(\pm 0,357) - 6,156(\pm 0,826)w_k^+ - 380,229(\pm 44,127)(\text{sf})_k^+ + 232,256(\pm 18,664)(\text{sf})_g^+ \quad (17)$$

$n = 8; R^2 = 0,979; r_{\text{VC}}^2 = 0,842; F = 61,180; p < 5\%; s = 0,129$

HL-60 (fase acuosa):

$$\log(\text{IC}_{50}^{-1}) = -5,161(\pm 0,440) - 5,030(\pm 1,032)w_k^+ - 343,271(\pm 55,170)(\text{sf})_k^+ + 217,535(\pm 23,237)(\text{sf})_g^+ \quad (18)$$

$n = 8; R^2 = 0,965; r_{\text{VC}}^2 = 0,322; F = 36,970; p < 5\%; s = 0,161$

Es importante destacar que, después de aplicar *jackknife* los valores de R^2 y r_{VC}^2 aumentan sustancialmente en ambas fases, excepto para el modelo indicado mediante la ecuación 18 donde, r_{VC}^2 al igual que en la ecuación 14 mantiene un valor no aceptable. Estos resultados, confirman la utilidad de los descriptores de la reactividad usados en este trabajo para predecir la actividad biológica.

Predicción de la actividad citotóxica para los derivados de cis-platino(II) propuestos

El propósito de desarrollar modelos QSAR se enfoca en investigar cómo los cambios en la estructura química de una molécula influyen sobre la actividad biológica, pues, con este conocimiento se puede contribuir al diseño racional de nuevos fármacos con mejores propiedades fisicoquímicas y biológicas, así como también, avanzar en el entendimiento de su mecanismo de acción. En consecuencia, las ecuaciones QSAR deben ser predictivas o de lo contrario darían bases pobres para comprender las interacciones químico-biológicas de las moléculas. Por ello, en esta investigación se usaron aquellos modelos con mayor calidad estadística para calcular la actividad biológica de los complejos de *cis*-platino(II) propuestos (figura 1B) con el fin de determinar su utilidad y poder predictivo.

Como se observa en la figura 1B, los complejos propuestos son estructuralmente similares a los sintetizados por Dalla Via y colaboradores (Dalla Via et al., 2006) (complejos 9 y 10), diferenciándose en la naturaleza del aminoácido unido al centro metálico y el grupo saliente (ciclobutanodicarboxilato). La coordinación del ligando ciclobutanodicarboxilato al complejo derivado se hizo teniendo en cuenta que las principales diferencias farmacocinéticas entre cisplatino y carboplatino dependen de la rapidez con la que se transforman a especies reactivas, dado que, estas especies interactúan con otras biomoléculas antes de alcanzar su diana biológica; el ADN y en consecuencia ocurre la desactivación del fármaco (van der Vijgh, 1991). La sustitución de los grupos cloruro en cisplatino por el ligando ciclobutanodicarboxilato produce una disminución sobre la velocidad de conversión a especies reactivas, lo cual reduce significativamente los efectos nefrotóxicos del carboplatino formado y no se afecta su actividad anticancerosa (Yao et al., 2007). Por tanto, es factible pensar que los nuevos derivados podrían conservar algunas de las propiedades reactivas de los fármacos de referencia, y las ecuaciones QSAR deben ser capaces de reproducir dichas propiedades una vez se calcule actividad biológica.

Efectivamente, los valores de IC_{50} predichos en fase gaseosa para las líneas celulares cancerosas HeLa y HL-60 (tabla 3) mediante las ecuaciones QSAR 15 y 16 reproducen el comportamiento esperado. Los complejos con grupos cloruro son más reactivos que aquellos con ciclobutanodicarboxilato, lo cual se encuentra en total acuerdo con la evidencia experimental (Yao et al., 2007). Además, en la tabla 3 para ambas líneas celulares se muestra la potencialidad antitumoral de los complejos I, V y IX respectivamente, que presentaron valores de IC_{50} bajos y por ende elevada actividad citotóxica. Así que, los aminoácidos valina, leucina e histidina incrementan la actividad citotóxica del complejo derivado. Los valores de IC_{50} predichos para los complejos I, V y IX mostraron concordancia con los reportados por Dalla Via y colaboradores (Dalla Via et al., 2006) para los complejos 9 y 10 (figura 1A), cuyas actividades citotóxicas estuvieron entre 50-125 μM .

No obstante, la actividad de los fármacos tiene lugar en medio acuoso, por lo que la inclusión de los efectos del entorno es importante para tener información más realista de las moléculas investigadas. En la fase acuosa, se encontró que los complejos VIII y X mostraron valores sustancialmente bajos de IC_{50} , lo cual resulta interesante, ya que es un comportamiento inusual para derivados de *cis*-platino(II) con el ligando ciclobutanodicarboxilato. Evidentemente, la coordinación de tirosina, histidina y ciclobutanodicarboxilato al centro metálico, juegan un papel crucial en el incremento de la actividad biológica de estos derivados y deja claro que la técnica QSAR en conexión con la química teórica son poderosas herramientas para la búsqueda sistemática de nuevos fármacos. Estos resultados, motivan y racionalizan la búsqueda de estrategias para la síntesis de agentes con potencialidad antitumoral basados en platino.

Tabla 3: Valores de IC_{50} predichos en fase gaseosa para los nuevos derivados de *cis*-platino(II) al nivel mPW1PW/LANL2DZ*

HeLa				
Complejos	w_k^+ (eV)	$(wf)_k^+$ (eV)	Ecuación QSAR	IC ₅₀ (μM)
I	-0,906	0,196	15	31,323
II	-0,422	0,048		1458,297
III	-0,733	0,136		263,110
IV	-0,301	0,026		772,053
V	-0,856	0,177		69,129
VI	-0,452	0,055		1448,455
VII	-0,833	0,157		329,734
VIII	-0,473	0,057		1962,746
IX	-0,809	0,164		86,743
X	-0,362	0,037		1074,210
HL-60				
I	-0,906	0,196	16	25,539
II	-0,422	0,048		1571,462
III	-0,733	0,136		252,460
IV	-0,301	0,026		780,621
V	-0,856	0,177		59,958
VI	-0,452	0,055		1564,055
VII	-0,833	0,157		325,234
VIII	-0,473	0,057		2177,890
IX	-0,809	0,164		76,362
X	-0,362	0,037		1122,484

Tabla 4: Valores de IC_{50} predichos en fase acuosa para los nuevos derivados de *cis*-platino(II) al nivel mPW1PW/LANL2DZ*

HeLa					
Complejos	w ⁺ _k (eV)	(sf) ⁺ _k (eV)	(sf) ⁺ _g (eV)	Ecuación QSAR	IC ₅₀ (μM)
I	-1,357	0,037	0,044	17	21,876
II	-1,005	0,036	0,043		2166,115
III	-1,426	0,053	0,062		623,785
IV	-0,920	0,043	0,052		29970,349
V	-1,395	0,039	0,046		23,920
VI	-0,985	0,035	0,042		2158,014
VII	-1,413	0,047	0,055		133,838
VIII	-1,290	0,038	0,049		6,792
IX	-1,399	0,045	0,053		96,938
X	-0,800	0,026	0,043		6,243
HL-60					
I	-1,357	0,037	0,044	18	32,235
II	-1,005	0,036	0,043		1353,310
III	-1,426	0,053	0,062		520,270
IV	-0,920	0,043	0,052		11156,943
V	-1,395	0,039	0,046		35,230
VI	-0,985	0,035	0,042		1342,808
VII	-1,413	0,047	0,055		143,786
VIII	-1,290	0,038	0,049		9,342
IX	-1,399	0,045	0,053		110,134
X	-0,800	0,026	0,043		5,368

En la tabla 4, los valores de IC_{50} para complejos III y IV (ligando triptófano) son apreciablemente altos en HeLa y HL-60. El valor pobre de actividad biológica obtenido para estos derivados no sorprende, pues de acuerdo con Moradell y colaboradores (Moradell et al., 2004), la coordinación de aminoácidos con cadenas laterales voluminosas a platino tiene efectos negativos sobre la actividad anticancerosa de complejo, debido a que el transporte a través de la membrana celular se dificulta.

En la figura 2, se presentan las gráficas de correlación entre los valores de $\log(IC_{50}^{-1})$ calculado y observado para los complejos de *cis*-platino(II), derivadas de las ecuaciones QSAR aplicando la técnica *jackknife*.

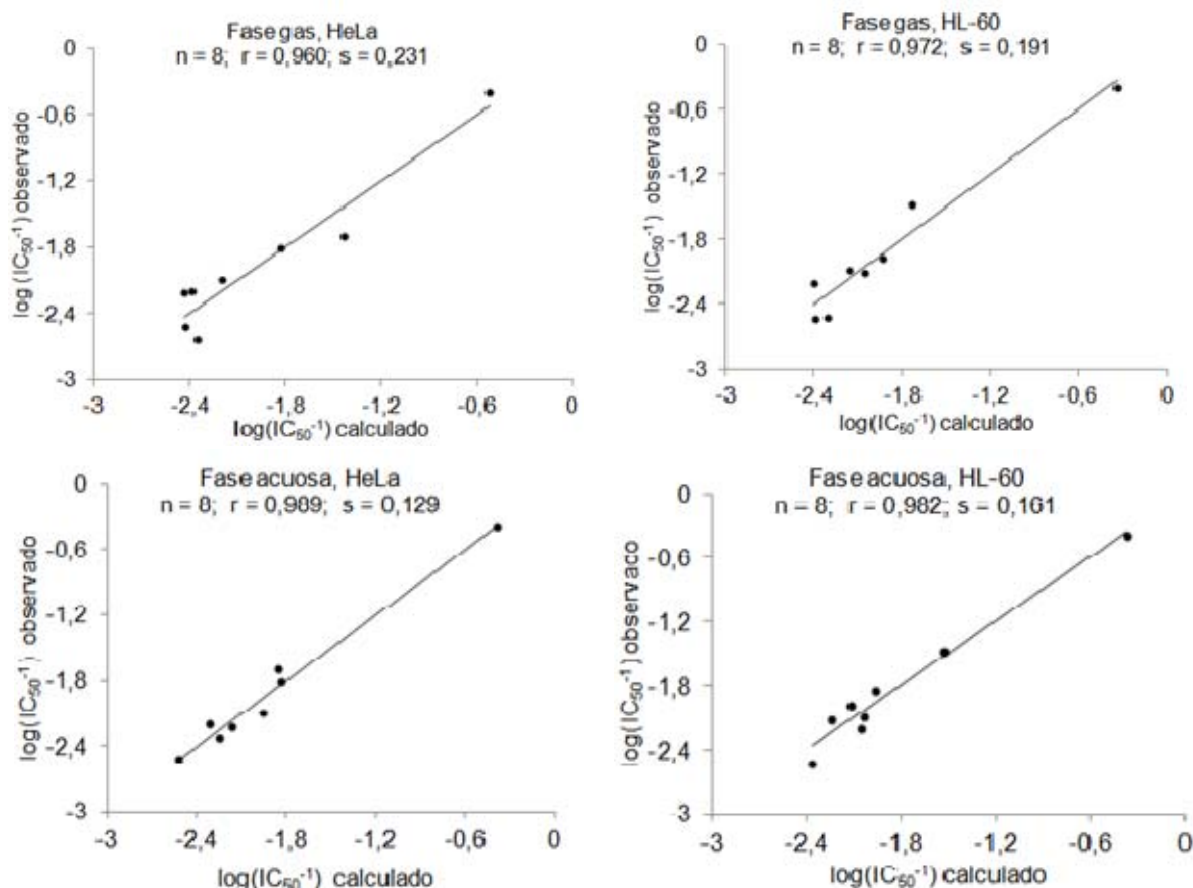


Fig. 2: Gráficos de citotoxicidad observada ($\log(\text{IC}_{50}^{-1})$) versus citotoxicidad calculada

En general, los gráficos entre la actividad citotóxica experimental y calculada, muestran que los índices de la reactividad; w_k^+ , $(wf)_k^+$, $(sf)_k^+$ y $(sf)_g^+$, son capaces de predecir la actividad biológica de los complejos investigados de un modo razonable con coeficientes de correlación (r) de 0,960 y 0,972 en fase gaseosa, y para la fase acuosa 0,989 y 0,982 respectivamente, indicando con ello la utilidad de estos descriptores en la predicción de la citotoxicidad de fármacos anticancerosos basados en platino.

CONCLUSIONES

La aproximación QSAR con cuatro parámetros (w_k^+ , $(wf)_k^+$, $(sf)_k^+$ y $(sf)_g^+$), arrojó modelos de regresión capaces de predecir la actividad anticancerosa de complejos de cis-platino(II) contra las líneas celulares cancerosas HeLa y HL-60 respectivamente. En general, los diferentes modelos construidos en fase gaseosa y acuosa fueron estadísticamente aceptables, dando valores de $R^2 > 0,8$ y $r_{\text{VC}}^2 > 0,6$ respectivamente. La aplicación de la técnica *jackknife*, mejoró sustancialmente la calidad global de los modelos de regresión en ambas fases, asegurando con ello mayor significación estadística y valor predictivo. Para los complejos propuestos se encontró, que la coordinación de los ligandos tirosina, ciclobutanodicarboxilato e histidina sobre el átomo de platino aumentaba la actividad citotóxica del derivado.

Asimismo, los valores predichos de IC_{50} , estuvieron de acuerdo con algunas observaciones experimentales reportadas para complejos de estructura química similar a los propuestos, por lo que se presume la potencialidad antitumoral y propiedades farmacológicas mejoradas para los derivados. En resumen, el estudio mostró la utilidad de los parámetros usados (descriptores) en el análisis de las relaciones cuantitativas estructura-actividad de las moléculas investigadas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Centro de Investigaciones Universitarias de la Universidad de Córdoba (CIUC), por el apoyo económico brindado a través del proyecto con código 1.2.08.109 y numeral FCB-03-09.

REFERENCIAS

Adamo, C. y V. Barone, *Exchange functionals with improved long-range behavior and adiabatic connection methods without adjustable parameters: The mPW and mPW1PW models*, J. Chem. Phys: 108, 664 (1998).

- Abu-Surrah, A.S, *Development and current status of unconventional platinum anticancer complexes*, Mini Rev. Med. Chem: 7, 203-211 (2007).
- Barabas, K., R. Milner, D. Lurie y C. Adin, *Cisplatin: a review of toxicities and therapeutic applications*, Vet. Comp. Oncol: 6, 1–18 (2008).
- Borst, P., S. Rottenberg y J. Jonkers, *How do real tumors become resistant to cisplatin?*, Cell Cycle: 7(10), 1353-1359 (2008).
- Chattaraj, P.K. y S. Giri, *Electrophilicity index within a conceptual DFT framework*, Annu. Reports Sect. C Phys. Chem: 105, 13-39 (2009).
- Chattaraj, P.K., B. Maiti y U. Sarkar, *Philicity: A Unified Treatment of Chemical Reactivity and Selectivity*, J. Phys. Chem. A: 107, 4973-4975 (2003).
- Cho, D.H, S.K. Lee, B.T. Kim y K.T. No, *Quantitative structure-activity relationship (QSAR) study of new Fluorovinyloxyacetamides*, Bull. Korean. Chem. Soc: 22(4), 388–394 (2001).
- Dalla Via, L., y otros cinco autores, *Synthesis, characterization and biological activity of platinum(II) complexes with l- and d-ornithine ligands*, Inorganica Chim. Acta: 359, 4197-4206 (2006).
- Dietrich, S.W., N.D. Dreyer, C. Hansch y D.L. Bentley, *Confidence interval estimators for parameters associated with quantitative structure-activity relationships*, J. Med. Chem: 23, 1201-1205 (1980).
- Engel, E., y R.M., Dreizler, *Density Functional Theory: An Advanced Course*, 1-541. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg (2011).
- Go, R.S. y A.A. Adjei, *Review of the Comparative Pharmacology and Clinical Activity of Cisplatin and Carboplatin*, J. Clin. Oncol: 17, 409-409 (1999).
- Gómez-Ruiz, S., D. Maksimović-Ivanić, S. Mijatović y G.N. Kaluđerović, *On the Discovery, Biological Effects, and Use of Cisplatin and Metallocenes in Anticancer Chemotherapy*, Bioinorg. Chem. Appl: 2012, 1-14 (2012).
- Hirshfeld, F.L., *Bonded-atom fragments for describing molecular charge densities*, Theor. Chim. Acta: 44, 129-138 (1977).
- Jensen, F., *Introduction to Computational Chemistry*, 2^a edition, 1-627. John Wiley & Sons Ltd, The Atrium, Southern Gate, Chichester, West Sussex PO19 8SQ, England (2006).
- Kiralj, R. y M. Ferreira, *Basic validation procedures for regression models in QSAR and QSPR studies: theory and application*, J. Braz. Chem. Soc: 20, 770-787 (2009).
- Kolandaivel, P., G. Praveena, y P. Selvarengan, *Study of atomic and condensed atomic indices for reactive sites of molecules*, J. Chem. Sci: 117, 591-598 (2005).
- Kubinyi, H., *2D QSAR Models: Hansch and Free-Wilson Analyses*, Computational Medicinal Chemistry for Drug Discovery, by P. Bultinck, Marcel Dekker, Inc., pp. 539-570, New York, USA, (2004).
- López, J.M., A.E. Ensuncho y J.R. Robles, *Estudio Teórico de la Reactividad Química y Biológica de Cisplatino y algunos Derivados con Actividad Anticancerosa*, Inf. tecnol: 24(3), 3-14 (2013a).
- López, J.M., A.E. Ensuncho y J.R. Robles, *Descriptores Globales y Locales de la Reactividad para el Diseño de Nuevos Fármacos Anticancerosos Basados en Cis-platino(II)*, Quim. Nova: 36(9), 1308-1317 (2013b).
- Martínez-Araya, J.I., G. Salgado-Morán y D. Glossman-Mitnik, *Computational Nutraceuticals: Chemical Reactivity Properties of the Flavonoid Naringin by Means of Conceptual DFT*, J. Chem: 2013, 1-9 (2013).
- Méndez, F. y J.L. Gazquez, *Chemical Reactivity of Enolate Ions: The Local Hard and Soft Acids and Bases Principle Viewpoint*, J. Am. Chem. Soc: 116, 9298-9301 (1994).

- Monti, E., y otros seis autores, *Cytotoxicity of cis-Platinum(II) Conjugate Models. The Effect of Chelating Arms and Leaving Groups on Cytotoxicity: A Quantitative Structure–Activity Relationship Approach*, J. Med. Chem: 48, 857-866 (2005).
- Moradell, S., y otros nueve autores, *Platinum complexes of diaminocarboxylic acids and their ethyl ester derivatives: the effect of the chelate ring size on antitumor activity and interactions with GMP and DNA*, J. Inorg. Biochem: 96, 493-502 (2003).
- Moradell, S., y otros nueve autores, *Water-soluble platinum(II) complexes of diamine chelating ligands bearing amino-acid type substituents: the effect of the linked amino acid and the diamine chelate ring size on antitumor activity, and interactions with 5'-GMP and DNA*, J. Inorg. Biochem: 98, 1933-1946 (2004).
- Padmanabhan, J., R. Parthasarathi, V. Subramanian y P.K. Chattaraj, *Theoretical study on the complete series of chloroanilines*, J. Phys. Chem. A: 110, 9900-9907 (2006).
- Padmanabhan, J., R. Parthasarathi, V. Subramanian y P.K. Chattaraj, *Group philicity and electrophilicity as possible descriptors for modeling ecotoxicity applied to chlorophenols*, Chem. Res. Toxicol: 19, 356-364 (2006).
- Padmanabhan, J., R. Parthasarathi, V. Subramanian y P.K. Chattaraj, *QSPR models for polychlorinated biphenyls: n-Octanol/water partition coefficient*, Bioorg. Med. Chem: 14, 1021-1028 (2006).
- Roy, D.R., R. Parthasarathi, B. Maiti, V. Subramanian y P.K. Chattaraj, *Electrophilicity as a possible descriptor for toxicity prediction*, Bioorg. Med. Chem: 13, 3405-3412 (2005).
- Sarmah, P. y R.C. Deka, *Solvent effect on the reactivity of CIS-platinum (II) complexes: A density functional approach*, Int. J. Quantum. Chem: 108, 1400-1409 (2008).
- Sarmah, P. y R.C. Deka, *DFT-based QSAR and QSPR models of several cis-platinum complexes: solvent effect*, J. Comput. Aided Mol. Des: 23, 343-354 (2009).
- SAS Institute 9.1, language reference concepts, volumes 1-2. SAS Pub., Cary, N.C. (2005).
- Tomasi, J., B. Mennucci, y R. Cammi, *Quantum Mechanical Continuum Solvation Models*, Chem. Rev: 105, 2999-3094 (2005).
- Van der Vijgh, W.J., *Clinical pharmacokinetics of carboplatin*, Clin. Pharmacokine: 21, 242-261 (1991).
- Vivas-Reyes, R., F. Núñez-Zarur, y E. Martínez, *Electronic structure and reactivity analysis for a set of Zn-chelates with substituted 8-hydroxyquinoline ligands and their application in OLED*, Org. Electron: 9, 625-634 (2008).
- Wold, S., *Validation of QSAR's*, Quant. Struct-Act. Rel: 10, 191-193 (1991).
- Yao, S.W. y otros cinco autores, *Synthesis and QSAR study of the anticancer activity of some novel indane carbocyclic nucleosides*, Bioorg. Med. Chem: 11, 4999-5006 (2003).
- Yao, X., K. Panichpisal, N. Kurtzman, y K. Nugent, *Cisplatin Nephrotoxicity: A Review*, Am. J. Med. Sci: 334, 115-124 (2007).
- Ye, Q.S. y otros cinco autores, *Synthesis, characterization and cytotoxicity of dihalogeno-platinum(II) complexes with L-histidine ligand*, Chem Pharm Bull: 57, 424-427 (2009).

