An. Real Acad. Farm. 1987, 53: 5 28.

Relaciones entre la estructura y las actividades antitumorales y/o antitripanosómicas desplegadas por los complejos cis-$Pt^{II}(L)_2(I)_2(OH)_2$ (donde L = derivado de tiazol y/o derivado de sulfonamida).*

por

D. G. CRACIUNESCU**, A. DOADRIO LOPEZ, C. MOLINA
Departamento de Química Inorgánica y Analítica, Facultad de Farmacia. Universidad Complutense.– Madrid, 28040.– España

A, GOMEZ, M. S. SANCHEZ DE LEON, L. FERNANDEZ DE SIMON
Departamento de Histología y de Microscopía de Electrónica. "Instituto Nacional de Toxicología," 28004– Madrid.– España

C. GHIRVU
Cátedra de Química–Física. 'Institutul Politehnic Iasi' Iasi.– Rumanía.

E. GASTON DE IRIARTE
Departamento de Urología. Universidad Autónoma de Madrid Facultad de Medicina, 28034– Madrid España

Resumen

Se presentan las propiedades antitumorales (frente a las ratas portadoras de tumores P_{388}; tumores ascíticos de Ehrlich) y antitripanosómicas (ratas infectadas con *T. brucei brucei* y/o *T. congolense*) de los complejos cis-$Pt^{II}(L)_2(I)_2$ y $Pt^{IV}(L)_2(I)_2(OH)_2$, donde L = derivado de tiazol y/o derivado de sulfonamida. Los complejos han sido caracterizados mediante datos de análisis químico y a través del estudio de sus espectros I.R. (4000 – 200 cm^{-1}). Se ha realizado el cálculo de O.M. Huckel para las moléculas de los ligandos puros (L), así como un estudio exhaustivo de la nefrotoxicidad (datos de microscopía óptica y de microscopía electrónica) del complejo más interesante de la serie, es decir cis-$Pt(L)_2(I)_2$ donde L = 2-Isopropiltiazol. Se ha trabajado con los siguientes ligandos (L): 2 amino-5 clormetiltiazol; 2 isopropiltiazol; 2 amino-4,5 dimetilamino 1,3,4 tiadiazol; 2-amino-5,6 dehidro 4 H ciclopentatiazol; 2 amino-5 bromotiazol; Sulfapirazina; Sulfaisomidina; Sulfamoxol; Sulfametoxipiridazina; Sulfaetidiol.

Palabras clave: Complejos del platino, actividades antitumorales y antitripanosómicas.

---

* Trabajo subvencionado por el proyecto 1529/82 de la CAICYT.– Madrid, España.

** Autor al que debe dirigirse toda la correspondencia.

SUMMARY

Structure-antitumour and antitripanocydal activities relationships for the cis-$Pt(L)(I)_2$ and $Pt(L)_2(I)_2(OH)_2$ complexes.

The "in vivo" antitumour and antiparasitarian properties (against mices bearing the established P_{388} Ehrlich ascitic tumours and/or infected with *T. brucei brucei* and/or *T. congolense*) of the new obtained cis-$Pt(L)_2(I)_2$ and $Pt(L)_2$ $(I)_2(OH)_2$ complexes, were performed at first. The following ligands (L) were employed: 2 amino-5chlormethylthiazole; 2-Isopropylthiazol; 2 amino-4,5 dimethilamino 1,3,4 thiadiazole; 2 amino-5 bromothiazole; 2 amino-5,6 dihidro-4 H cyclopentathiazole; Sulphapyrazine; Sulphaisomidine; Sulphamoxole; Sulphamethoxypyridazine; Sulphaethidiole. The new obtained complexes were characterized through their elemental chemical analysis and I.R. spectra. M.O. Huckel's calculations were performed for the ligand's molecules (L)–(thiazole and sulphonamide derivatives), in order to reach a better understanding of their structure pharmacological activities. The nephrotoxicity of the most promising complexe, that is cis-$Pt(L)_2(I)_2$ where L = 2-Isopropylthiazole, was studied by optical and electronic microscopy methods.

Key words: Platinum complexes, antitumour and antitrioanocydal activities.

I. INTRODUCCION

En los últimos años, se ha puesto un especial énfasis en el estudio de las actividades duales (es decir antitumorales-antitripanosómicas), desplegadas por los complejos análogos del medicamento clasico de actividad anticancerosa "Neoplatin", es decir hacia el diseño de los nuevos complejos del Pt(II) de simetría molecula "cis" (1–6). También se han estudiado los complejos del Pt(IV) obtenidos por la oxidación de las series correspondientes de los cis complejos del Pt(II), en razón a su elevada solubilidad en el agua (5-8).

En una serie de trabajos publicados por Craciunescu y colaboradores (1–6) se han verificado una serie de interesantes relaciones duales (actividad antitumoral-actividad antitripanosómica) "in vivo" y también "in vitro" (6–9).

En efecto Craciunescu y Osuna (9–10), así como Craciunescu y Ercoli (11) postularon en base a datos experimentales "in vitro" y/o "in vivo" una relación dual entre entre las actividades antitumorales desplegadas por los complejos del Pt(II) y del (IV) de simetría molecular cis frente a determinados tipos de tumores leucémicos (P_{388}, L_{1210}, tumores S–180 ascítico, Yoshida ascítico, ADJ/PC6 como frente a los distintos Tripanosomas africanos y/o Trypanosomas americanos (*T. cruzi*; *T. brucei brucei*, *T. congolense*).

Farrell y col. (12–14), así como Wysor y col. (16) comprobaron esta relación dual (actividad antitumoral – actividad antitripanosómica) para unas amplias series de complejos del Pt(II), Pt(IV), Rh(II) frente a los distintos tumores sólidos y frente a las ratas infectadas con *T. rhodesiense*. Farrel postuló en 1984 por primera vez en base datos de microscopía electrónica el mecanismo de acción antiparasitaria de varios complejos del Rh(II), Pt(II) y Pt(IV) (16, 17).

Estudios de microscopía electrónica y de bioquímica (incorporación de varios aminoácidos) realizados sobre el parásito *T cruzi.* tratado con distintos complejos del Pt(II) permitieron a Osuna y Craciunescu (18–20) establecer que la actividad antiparasitaria se debe a la actuación alquilante de los complejos del Pt(II) de simetría molecular "cis" sobre el ADNK (ADN del Kinetoplasto del parásito). No hay que olvidar que el efecto antitumoral de los análogos del "neoplatin" se explica también a través de la aceptación de una interacción directa, específica y selectiva sobre los pares G–C del ADN tumoral (procesos de "interstrand cross linking" y también de "intrastrand cross linking") (21–22).

Las actividades impresionantes desplegadas por una serie de complejos del Pt(II) de simetría molecular cis como por las series cis-$Pt(L)_n(X)_2$ donde n = 1 ó 2, X = Cl^-, Br^- y L = ciclopentilamina; ciclohexilamina; 1,2 Diaminociclohexano, así como otros medicamentos orgánicos clásicos de acción antiparasitaria ("Berenile", "Pentamidina", "Stilbamidina', "2-Hidroxistilbamidina", Nifurtimox". "Thiadiazole", "Methamidium", "Lampit"– *frente a ratas infectadas con T. rhodesiense, T. brucei brucei, T. Congolense, T. cruzi, puestos de relieve en recientes trabajos y/o comunicaciones por Craciunescu y Colabo. (23), Craciunescu y Osuna (18–20) Craciunescu y Gayral (24-25), fueron aún más motivados por el hallazgo* [*(Craciunescu y Gaston de Iriarte (26), Craciunescu y Gómez (27)*] *de su baja toxicidad renal y/o hepática.*

Todos estos hechos nos hicieron emprender el estudio de las actividades duales (antitumorales y antitripanosómicas) de unas nuevas series de complejos cis-$Pt(L)_2(I)_2$ y de sus análogos del Pt(IV), es decir $Pt(L)_2(I)_2(OH)_2$ donde L = derivado de tiazol y/o derivado de sulfonamida.

Se han empleado los siguientes ligandos (L): 2-amino-5 clormetiltiazol; 2-isopropiltiazol; 2-amino-4,5 dimetilano 1,3,4 tiadizol; 2-amino-5,6 dihidro 4H ciclopentatiazol; 2 amino-5 Bromotiazol; Sulfapirazina; Sulfaisomidina; Sulfametoxipiridazina; Sulfaetidiol.

Los complejos han sido caracterizados a través de los datos del análisis químico elemental y de su espectros I.R. (4000 – 200 cm^{-1}); también se ha realizado un cálculo de O.M. Huckel para las moléculas de los ligandos (1), con el fin de poner de manifiesto las relaciones que pueden existir entre las magnitudes de las interacciones L: ⟶ Pt(II); L: ⟶ PT(IV) y, por otro lado, las actividades farmacológicas de los nuevos complejos del Pt(II) y del Pt(IV)

Las actividades antitumorales de los nuevos complejos se han estudiado en colaboración con el "National Cancer Institute" (Bethesda, USA), sobre las ratas portadoras de tumores leucémicos P_{388} y/o de tumores ascíticos de Ehrlich; las actividades antitripanosómicas se han valorado (en colaboración con el "Institute of Veterinary Medicine", Berlín, Alemania Federal) sobre ratas infectadas con dos líneas de parásitos: *T. brucei* y *T. congolense.*

El complejo mas interesante, es decir cis-$Pt(L)_2(I)_2$, donde L = 2-Isopropiltiazol, se han estudiado desde el punto de vista de su toxicidad a nivel

renal, mediante datos de microscopía óptica y electrónica de los cortes del riñón de ratas Wistar tratadas con el mencionado complejo.

II. Parte Experimental

1. *Síntesis de los nuevos complejos del Pt(II) y del Pt(IV)*

Los complejos cis-$Pt(L)_2(I)_2$ y $Pt^{II}(L)_2(I)_2(OH)_2$ descritos en este trabajo, donde L = derivado de tiazol y/o derivado de sulfonamida, han sido obtenidos por la reacción entre $K_2(Pt\ I_4)$ obtenido "in situ" por la reacción del $K_2(Pt\ Cl_4)$ agua con K I (Pt^{2+}: K I = 1:4), disuelto en agua, bajo fuerte agitación y calentamiento (a 80 – 90°), con las cantidades correspondientes de los ligandos (L) (esteoquiomerías Pt(II): L = 1:2), disueltos en mezclas calientes :1 Agua–Etanol' *La mezcla total de reacción se ha concentrado, bajo fuerte agitación, a unos 80–90°* hasta alcanzar 1/4–1/5 de su volumen inicial. Despues se ha guardado a 0,–5°C, durante 24 horas, y se han filtrado los complejos resultantes (de color marrón–marrón rojizo), en forma de polvos microcristalinos, sobre crisoles G_4. Los complejos así obtenidos se han lavado varias veces con agua, etanol y éter. Los nuevos complejos del Pt(II) así obtenidos, se han dejado desecar sobre $CaCl_2$, en un desecador. Son poco solubles en el agua (< 1 mg/ml), pero muy solubles en DMSO, DMF y en piridina.

Los complejos análogos del Pt(IV) se han obtenido mediante la oxidación de sus análogos del Pt(II) con H_2O_2 30 $^0/_0$, según el procedimiento descrito por Connors (7). Los complejos del Pt(IV), así obtenidos son de color amarillo–amarillo brillante, y mucho más solubles en agua (> 5 mg/ml) que sus análogos del Pt (II). Se han filtrado también sobre crisoles G5 y/o G4 (en forma de polvos microcristalinos amarillos) y se han lavado con algo de etanol (10–20 cm^3) y mucho éter. Se han dejado desecar en un desecador con $CaCl_2$. Ambas series de complejos (es decir cis–$Pt(L)_2(I)_2$ y cis–$Pt(L)_2(I)_2(OH)_2$,) obtenidos según el método de Connors (7), son estables a la exposición al aire y a la luz. Los complejos del Pt(IV) también son muy solubles en DMSO, DMF, Piridina y acetato de etilo.

2. *Análisis de los nuevos complejos del Pt(II) y del Pt(IV).*

El análisis químico elemental de los nuevos complejos se ha realizado en los "Laboratorios Galbraith, TN, USA" y/o en los "Laboratorios ABIC" (Ramat Gan, Israel). El contenido en $^0/_0$ Pt se ha valorado previa combustión de las muestras a los 950–1000°C en forma de Pt(O) (gravimetría).

Los contenidos ($^0/_0$) en C, H, N, S, O, I se han valorado por métodos clásicos de microcombustión; el $^0/_0$ en I se han valorado finalmente como AgI.

Los resultados encontrados de los ánalisis químicos elementales no difieren en más de un 0,4 $^0/_0$ de los valores calculados teóricamente, lo que indudablemente apoya la formulación correcta de las dos series de complejos del platino, esto es $Pt(L)_2(I)_2$ y $Pt(L)_2(I)_2(OH)_2$.

3. *Espectros I.R. de los complejos.*

Los espectros I.R. de los complejos descritos en este trabajo, se han realizado, en partículas de KBr y/o KI con la ayuda de unos espectrofotómetros I. R. Perkin Elmer 457 (4000–250 cm^{-1}), Perkin Elmer 657-4000-200 cm^{-1}) y/o 'Karl Zeiss Jena" (UR–10) (rango de frecuencias 4500–600 cm^{-1}).

4. *Actividades antitumorales*

El estudio de las actividades antitumorales de los nuevos complejos descritos en este trabajo, se ha realizado, según las normas del "National Cancer Institute" (Bethesda. USA) sobre las ratas portadoras de tumores P_{388} y/o tumores ascíticos de Ehrlich. Los complejos se han administrado (por vía I.P. como suspensiones o disoluciones en 5 $^0/_0$ Dextrosa en el agua), según dos esquemas de tratamientos:

a) Una sola inyección el día 1.

b) Tres inyecciones, los días 1, 5, 9 (siendo el día 0 el día del implante del tumor).

El efecto antitumoral se considera según las normas de dicho Instituto norteamericano, para los valores T/C ⩾ 125 $^0/_0$, siendo T = el tiempo de sobrevivencia de los animales "Tratados" y C = tiempo de sobrevivencia de los animales "Control" (tumores P_{388}) y para valores T/C ⩾ 150 $^0/_0$ (para los tumores asciticos de Ehrlich).

5. *Actividades antitripanosómicas.*

El estudio de las actividades antitripanosómicas se ha realizado en colaboración con el "Institute of Veterinary Medicine" (Berlın, Alemania Federal), sobre las ratas infectadas con 10^5 parásitos *T. brucei brucei* (inoculación realizada 30' antes de administrar los complejos, por vía s.c.) y/o *T. congolense* (también 10^5 parásitos inoculados 30' antes de administrar los complejos). Los complejos han sido administrados como suspensiones en aceite por vía s.c. en varias dosis "standard" 400 mg/Kg; 200 mg/Kg; 100 mg/Kg y 50 mg/Kg. La actividad antitripanosómica (expresada en claves de 1–5), toma en cuenta:

a) La parasitemia en la sangre de las ratas.

b) El tiempo de sobrevivencia, en relación al tiempo de sobrevivencia de los animales infectados (que suelen morir a los 2 días de realizada la inoculación con los parásitos) día T. Por lo tanto, según las claves empleadas, los tiempos de sobrevivencia pueden ser T ± 2; T ± 4; T ± 8; etc..., o bien T (falta de actividad), siendo T = 2 días para los animales que no recibieron ningún tipo de complejos.

6. *Cálculos de O.M. Huckel.*

Los calculos de O.M. Huckel se han realizado para las moléculas de los ligandos (L) –véase Tabla I– en colaboración con el "Centrul de Calcul" Iasi. Rumanía.

TABLA I

Resultados de los cálculos de O.M. Huckel para los ligandos L(derivados de tiazol y derivados de sulfonamida)

Ligando	Q⩾N	Q-NH_2	Q-S	Grupo Q-SO_2	Grupo Q-NH-R
2 isopropiltiazol	1,8114	---	1,8371	---	---
2 amino-4,5 dimetiltiazol	1,2525	1,9346	1,8511	---	---
2 amino-5,6 dihidro-4H ciclopentotiazol	1,2617	1,9336	1,8788	---	---
2 amino 4 clorobenzotiazol	1,2566	1,9322	1,8697	---	---
2 amino-5 clorometiltiazol	1,2450	1,9351	1,8458	---	---
Sulfaetidiazol	1,4288	1,9484	0,6781	1,6742	1,8201
	1,1098				
Sulfapirazina	1,5554	1,9484	0,6781	1,6790	1,8985
	1,0892				
Sulfametoxipiridazina	1,0975	1,9484	0,6783	1,6799	1,9069
	1,0687				
Sulfaisomidina	1,2136	1,9484	0,6780	1,6798	1,0987
1,2254					
Sulfamoxol	1,2683	1,9484	0,6785	1,6789	1,8892
	1,1976				

7. *Estudios de nefrotoxicidad (microscopía óptica y microscopía electrónica) de los cortes de riñón de las ratas que recibieron el complejo más interesante, es decir cis-Pt $(L)_2(I)_2$, donde L = 2 Isopropiltiazol*

En este trabajo se han utilizado ratas Wistar de ambos sexos y con un peso aproximado de unos 150 g. El complejo se administró en una única dosis de 110 mg/Kg de peso corporal (DL50 = 220 mg/Kg de peso corporal) por vía intraperitoneal. Los animales fueron sacrificados a las 192 h, mediante perfusión intracardiaca. El tejido procesado para microscopía óptica fue fijado con formol al 10 % y teñido con las técnicas e Hematoxilina-eosina, P.A.S., Van Giesson y Reticulina. El tejido procesado para microscopía electrónica fue fijada con glutaraldehído al 2,5 % en tampón fosfato 0,1 M, postfijado en OsO_4 al 2 %, deshidratado en acetonas e incluído en eponaraldita. Los cortes semifinos (1 μm) fueron teñidos con azul de toluidina. Los cortes ultrafinos fueron teñidos con acetato de uranilo y citrato de plomo; y examinados en un microscopio Zeiss 109.

III. Resultados y Discusion

Los espectros I.R.y los resultados del análisis químico confirman como correcta la formulación de los complejos como, respectivamente cis-$Pt(L)_2(I)_2$ y $Pt(L)_2(I)_2(OH)_2$ (donde L = derivados de tiazol y/o derivados de sulfonamida). *Podemos observar, que los espectros I.R. de los complejos discutidos en este trabajo presentan muchas analogías con los espectros I.R. de los complejos análogos (formulados como cis-$Pt(L)_2(Cl)_2$; cis-$Pt(L)_2(Br)_2$ y $Pt(L)_2(Cl)_2(OH)_2$) discutidos recientemente por nosotros en estos Anales* (1–2).

En efecto, los espectros I.R. de los complejos nuevamente sintetizados, presentan las siguientes características generales:

a) En el caso donde L = derivado de tiazol (tanto para los complejos del Pt(II) como para los complejos del Pt(IV)), parece que los ligandos L se comportan como ligandos monodentados, coordinando hacía el Pt(II) y/o Pt(IV) a través del átomo de nitrógeno terciario. En efecto las vibraciones de tensión νC–S (rango de frecuencia de los ligandos puro 670–710 cm^{-1}), no experimentan ningún desplazamiento en el caso de los complejos, y en cambio si se desplazan en los complejos las vibraciones de tensión νC = N (presentes en los ligandos puros en el rango de frecuencias 1660–1630 cm^{-1}), hacía menores frecuencias (desplazamientos del orden de 10–30 cm^{-1}). Los complejos del Pt(II) y del Pt(IV) donde L = derivado del tiazol, presentan además una banda de mediana intensidad (640–680 cm^{-1}), ausente en el espectro I.R. de los ligandos puros), y asignada a las nuevas vibraciones de tensión νPt–N. Ambos tipos de complejos (del Pt(II) y del Pt (IV), donde L = derivado de tiazol) presentan además unas vibraciones de tensión muy débiles en la zona de frecuencia 250–200 cm^{-1}, ausentes en los espectros I.R. de los ligandos puros; estas dos bandas débiles, centradas alrededor de 200–210 cm^{-1} respectivamen-230–215 cm^{-1}, se asignaron vibraciones de tensión νPt–I, sugiriéndoses así la formación de estructura "cis" de baja simetría molecular

b) En los casos en los que los ligandos empleados (L) son derivados de aminotiazol, hemos postulado la actuación monodentada de estos ligandos hacía el Pt(II) y/o el Pt(III) a través de los grupos $-NH_2$ exocíclicos exclusivamente. En efecto los grupos $-NH_2$ de los ligandos L (derivados de aminotiazol) que daban dos vibraciones de tensión de intensidad moderada (νNH_2 sim, νNH_2 asim) en el rango de frecuencia 3300–3200 cm^{-1}, presentan en el caso de los complejos del Pt(II) y Pt(IV) un cambio evidente. Las vibraciones νNH sim, νNH_2 asim se desplazan con 10–30 cm^{-1} hacia menores frecuencias, indicándose así la existencia de un proceso de donación electrónica

$$-NH_2 : \longrightarrow Pt(II); \quad -NH_2 \longrightarrow Pt(IV)$$

Las vibraciones νC–S y respectivamente νC=N, existentes en los espectros de los ligandos puros (derivados de aminotiazol) alrededor de, respectivamente, 670–710 cm^{-1}, no experimentan ningún desplazamiento (en los espectros I.R. de los complejos del Pt(II) y Pt(IV)). También en el caso de estos complejos, es decir donde L = derivado de aminotiazol, pudimos observar en los espectros I.R., la existencia de algunas bandas (640–680 cm^{-1}) que no existían en el espectro I.R. de los ligandos puros, y asignada a las nuevas vibraciones de tensión νPt–N.

Las vibraciones de tensión νPt–I, aparecen en los espectros I.R. de los complejos del Pt(II) y Pt(IV) con aminotiazoles; en forma de dos bandas de débil intensidad en el rango 220–200 cm^{-1}, apuntando hacía una simetría "cis" baja, de estas nuevas estructuras.

c) Los espectros I.R. de complejos $Pt(L)_2(I)_2(OH)_2$ y cis-$Pt(L)_2(I)_2$, donde L = derivado de sulfonamida, presentan las mismas características que los espectros I.R. de otros complejos del Pt(II) y Pt(IV) critos por Craciunescu y colaboradores (1–6); según los cuales estos ligandos (L) enlazan con el ión Pt(V) exclusivamente a través del grupo $-NH_2$ colocado en la posición "para" del anillo bencénico de los derivados de sulfonamida. En efecto en los espectros I.R. de estos complejos se observan las siguientes características generales:

1) Dos bandas de débil intensidad en el rango de las bajas frecuencias I.R. (220–200 cm^{-1}), asignadas a las vibraciones de tensión νPt–I, sugiriéndose así una simetría molecular baja, "cis"de estas es tructuras nuevas del Pt (II) y Pt(IV).

2) Una banda de intensidad mediana, ausente de los espectros I.R. de los ligandos puros, que aparecen en el rango de frecuencias 670–740 cm^{-1}, y asignada a las nuevas vibraciones de tensión νPt–N.

3) Las bandas de tensión νNH_2 sim, νNH_2 asim (rango de frecuencias en los, ligandos puros 3400–3150 cm^{-1}) experimentan, en los espectros I.R. de los complejos, desplazamientos de 20–40 cm^{-1} hacía menores frecuencias.

4) Las bandas de tensión νS=O, νS–N de los espectros I.R. de los ligandos puros, no experimentan ningún desplazamiento hacia menores frecuencias (véase para más detalles los trabajos de Craciunescu y colaboradores y de Shafransky (1–2, 28–29).

Los espectros I. R. de los complejos del Pt(IV), formulados como $Pt(L)_2(OH)_2(I)_2$ *(donde L = derivado de tiazol; derivado de aminotiazol; derivado de sulfonamida), presentan además una banda de mediana intensidad (rango de frecuencia 570–600* cm^{-1}*) asignada a las nuevas vibraciones de tensión* ν*Pt–O, producidas por la introducción de los dos grupos –OH en las posiciones axiales de estas estructuras octaédricas.*

Los datos de espectroscopia I.R., esbozados en este apartado, y que sugieren la actuación coordinadora de los ligandos (L) como ligandos monodentados, podrían ser relacionados con los resultados de los cálculos O.M. Huckcel, realizados para las moléculas de los ligandos puros (L) –véase Tabla I)–.

En efecto las cargas π electrónicas más elevadas están siempre situadas sobre los grupos $-NH_2$ exocíclicos de los anillos bencénicos de los derivados de sulfonamida y de los derivados de aminotiazol. En el casos de los derivados de tiazol las cargas π electrónicas más elevadas están siempre localizadas sobre los átomos de nitrógeno terciario de los derivados de tiazol.

Respecto a las actividades antitumorales desplegadas por los complejos del Pt(II) y del Pt(IV) presentados en este trabajo, podemos poner de relieve las siguientes características generales (véase Tabla II).

1.– No hay ninguna relación bien definida entre las actividades antitumorales "in vivo" (tumores leucémicos P_{388} y/o tumores ascíticos de Ehrlich), las cargas π electrónicas localizadas sobre los átomos dadores que enlazan con los iones Pt(II) o Pt(IV).

2.– Los complejos del Pt (II) son siempre más activos que los complejos del Pt (IV) en ambas líneas de tumores.

3.– La línea de tumores "ascíticos de Ehrlich" es siempre (tanto para los complejos del Pt(II) como para los complejos del Pt(IV) más sensible que la línea de tumores P_{388}.

4.– La administración de los complejos en dosis pequeñas (fraccionados los días 1, 5, 9) induce siempre mayores valores T/C $^0/_0$, respecto a la administración de una dosis mayor mediante una sola inyección el día 1 (siendo el día 0 el día del transplante y/o inducción del tumor).

5.– Los complejos más activos, en ambas líneas de tumores son lo complejos del Pt(II) con derivados de tiazol. El complejo más activo, es de-

TABLA II

Resultados de los ensayos antitumorales "in vivo" realizados con los nuevos complejos del Pt(II) y del Pt (IV)

Complejo	Dosis (mg/Kg)	Vehículo	Tumor	T/C %	Número de inyecciones
cis-Pt(2 Isopropiltiazol)(I)	200	5 % Dextrosa	Ascítico	215	3
	100	en agua	Ehrlich	210	
	50			190	
	25			165	
cis-Pt(2 amino-4-clorbenzotiazol)$(I)_2$	200	,,	,,	175	,,
	100			170	
	50			163	
cis-Pt(2 amino-5 clorometilbenzotiazol)$(I)_2$	200	,,	,,	160	,,
	100			157	
	50			150	
cis-Pt(2 amino-4 metiltiazol)$(I)_2$	200	,,	,,	153	,,
	100			150	
	50			147	
cis-Pt(2 amino-5,6 dihidro-4 H ciclopentatiazol$_2(I)_2$	200	,,	,,	160	,,
	100			152	
	50			147	
cis-Pt(2 amino-4,5 dimetiltiazol)$_2$ $(I)_2$	200	,,	,,	157	,,
	100			157	
	50			140	
cis-Pt(2 etilamino-1,3,4, tiadiazol) $(I)_2$	200	,,	,,	147	,,
	100			140	
	50			120	
cis-Pt(Sulfametoxipiridazina)$_2(I)_2$	200	,,	,,	132	,,
	100			125	
	50			120	
cis-Pt(Sulfaetidiol)$_2(I)_2$	800	,,	,,	141	,,
	400			122	
	200			120	
	100			120	
	50			110	

TABLA II (cont.)

Complejo	Dosis (mg/Kg)	Vehículo	Tumor	T/C %	Número de Inyecciones
cis-Pt(Sulfamoxol)$_2(I)_2$	800	5 % Dextrosa	Ascítico	130	3
	400	en agua	Ehrlich	125	
	200			125	
	100			117	
	50			110	
cis-Pt(Sulfamoxol)$(I)_2$	800	,,	,,	132	,,
	400			127	
	200			115	
	100			110	
	50			Inactivo	
cis-Pt(2 Isipropiltiazol)$(I)_2$	200	DMSO	,,	125	,,
	100			110	
	50			Inactivo	
	25			Inactivo	
cis-Pt(2 Isopropiltiazol)$(I)_2$	200	5 % Dextrosa	,,	140	1
	100	en agua		125	
	50			125	
	25			120	
cis-Pt(2 Isopropiltiazol)$(I)_2$	200	,,	P_{238}	143	3
	100			139	
	50			131	
cis-Pt(2 etilamino-1,3,4, tiadiazol) $(I)_2$	200	,,	,,	137	,,
	100			127	
	50			115	
cis-Pt(2 amino-4 clorobenzotiazol $(I)_2$	200	,,	,,	130	,,
	200			125	
	50			120	
cis-Pt(2 amino-5 clorometilbenzotiazol)$(I)_2$	200	,,	,,	125	,,
	100			122	
	50			Inactivo	
cis-Pt(2 amino-4 metiltiazol)$(I)_2$	200	,,	,,	128	,,
	100			125	
	50			120	

TABLA II (cont.)

Complejo	Dosis (mg/Kg)	Vehículo	Tumor	T/C %	Número de Inyecciones
cis-2 amino-5,6 dihidro-4H ciclo-plentatiazol)$(I)_2$	200	5 % Dextrosa	P_{388}	120	
	100			Inactivo	
	50			Inactivo	
cis-Pt(2 etalomino-1,3,4 tiadiazol)$_2$ $(I)_2$	200			125	,,
	100			120	
	50			Inactivo	
cis-Pt(sulfametoxipiridazina)$(I)_2$	800	,,	,,	118	,,
	400			115	
	200			110	
cis-Pt(Sufaetidiol)$(I)_2$	800			110	,,
	400			Inactivo	
	200			Inactivo	
cis-Pt(Sulfamoxol)$_2(I)_2$	800	,,	,,	112	,,
	400			Inactivo	
	200			Inactivo	
cis-Pt(Sulfapirazina)$(I)_2$	800	,,	,,	110	
	400			Inactivo	
	200			Inactivo	
cis-Pt(2 Isopropiltiazol)$(I)_2(OH)_2$	400		Ehrlich	140	,,
	200		ascítico	127	
	100			125	
	50			115	
cis-Pt(2 isopropiltiazol)$(I)_2(OH)_2$	400	,,	P_{388}	120	
	200			Inactivo	
	100			Inactivo	
	50			Inactivo	

Los restantes complejos cis-Pt$(L)(I)_2(OH)_2$ donde L = derivados de tiazol y/o derivados de sulfonamida, son inactivos en ambas líneas de tumores, para dosis comprendidas entre 800 – 50 mg/Kg (administración i.p. como suspensión en 5 % Dextrosa en el agua).

cir cis-Pt$(L)_2(I)_2$, donde L = 2- isopropiltiazol ha sido también estudiado desde el punto de vista de su posible acción nefrotóxica, ya que como se sabe, el factor limitante en el empleo de los complejos del Pt(II) y del medicamento de referencia "Neoplatin" reside casi siempre en su elevada nefrotoxicidad.

6.– Es interesante mencionar que los complejos del Pt(IV) presentan valores LD50 muy superiores a los valores LD50 de los complejos del PT(II) (respectivamente rango de valores 500–850 mg/Kg y 200–350 mg/Kg). Estos elevados valores LD50 podrían estar relacionados con la baja solubilidad en el agua de estos iodocomplejos (del orden de 0,01–02 mg/ml), hecho que explicaría la mala adsorbción de estos complejos y su posible actuación como "medicamentos depósito".

7.– Ninguno de los complejos del Pt(II) y del Pt(IV) presentados en este trabajo induce valores iguales (T/C %) a los inducidos por el medicamento de referencia cis-Pt $(NH_3)_2(Cl)_2$ "Neoplatin", en ambas líneas de tumores. *No obstante el interés que hemos asignado al complejo más activo de la serie, anteriormente mencionado, reside, aparentemente en su escasísima toxicidad a nivel renal (véase para más detalles el apartado dedicado a los estudios de nefrotoxicidad).*

8.– Incluso en comparación con los complejos originados por los mismos ligandos (L), y que pertenecen a las series cis-Pt$(L)_2(X)_2$ donde X = Cl^- o Br^-) y Pt$(L)_2(Cl)_2(OH)_2$, descritos anteriormente por nosotros en estos mismos Anales (1), los iodocomplejos, cis-Pt$(L)_2(I)_2$ y Pt$(L)_2(OH_2(I)_2$ son mucho menos activos frente a la línea de tumores P_{388}.

En cuanto a los resultados de los ensayos "un vivo" antitripanosómicas (T. brucei brucei y/o T. congolense) el panorama cambia por completo –véase la Tabla III–.

Nos encontramos, a diferencia de lo que habíamos encontrado en el caso de los complejos análogos cis-Pt$(L)_2(Cl)_2$ y cis–Pt$(L)_2(Br)_2$, descritos anteriormente por nosotros (1), con el hecho de que algunos de todos estos complejos, presentan una interesante, (potente), actividad antitripanosómica, especialmente frente a la línea de parásitos T. brucei brucei.

Parece que hay una relación dual en el caso de la serie cis-Pt$(L)_2(I)_2$ donde L = derivado de tiazol. Cuanto mayor actividad antitumoral despliega un complejo, mayor actividad antitripanosómica posee dicho complejo frente a la infección producida por T. brucei brucei. Esta relación dual no se manifiesta en el caso de los restantes iodocomplejos del Pt(II) y Pt(IV) originados por ligandos L = derivados de sulfonamida.

En efecto, los complejos del Pt(II) y Pt(IV) con los derivados de sulfonamida descritos en este trabajo son inactivos frente a las infecciones producidas por *T. brucei brucei* y/o por *T. congolense.* Hasta la fecha según Farrell (16), parece que la línea de infección parasitaria *T. rhodesiense* es la más sensible (respecto a otras líneas de infección tripanosómicas) a la actuación de los complejos del Pt (II) y Pt(IV).

TABLA III

Resultados de los ensayos antitripanosómicos "in vitro" realizados con los nuevos complejos del Pt(II) y del Pt(IV).

Complejo	Parásito	Dosis (mg/Kg)	Número de Inyecciones	Código	Resultado
cis-Pt(Sulfamoxol)$_2$(I)$_2$	*T. brucei*	400	1	4	Activo
		200		4	Activo
		100		3	Lig. activo
		50		2	Inactivo
cis-Pt(Sulfamoxol)$_2$(OH)$_2$(I)$_2$	,,	400	,,	4	Activo
		200		4	Activo
		100		3	Lig. activo
		50		3	Inactivo
cis-Pt(Sulfaetidiol)$_2$(I)$_2$	,,	400	,,	4	Activo
		200		4	Activo
		100		4	Activo
		50		3	Lig. activo
		25		2	Inactivo
cis-Pt(Sullfaetidiol)$_2$(OH)$_2$(I)$_2$	,,	400	,,	4	Activo
		200		4	Activo
		100		4	Activo
		50		4	Activo
		25		3	Lig. activo
cis-Pt(2 Isopropiltiazol)$_2$(I)$_2$	,,	400	,,	5	Tóxico
		200		3	Lig. activo
		100		3	Lig. activo
		50		3	Lig. activo
cis-Pt(Isopropiltiazol)$_2$(OH)$_2$(I)$_2$	,,	600	,,	5	Tóxico
		400		3	Lig. activo
		200		3	Lig. activo
		100		2	Inactivo
		800		3	Lig. activo
cis-Pt(2-Etilamino 1,3,4 tiadiazol)(I)$_2$	,,	400	,,	4	Activo
		200		3	Lig. activo
		100		3	Lig. activo
		50		2	Inactivo

TABLA III (cont.)

Complejo	Parásito	Dosis (mg/Kg)	Número de Inyecciones	Código	Resultado
Pt(Sulfametoxipiridazina)(I)$_2$(OH)$_2$	*T. brucei*	800	1	4	Activo
		400		4	Activo
		200		4	Activo
		100		4	Activo
		50		3	Lig. activo
cis-Pt(Sulfapiridazina)$_2$(I)$_2$	,,	800	4	Activo	
		400		4	Activo
		200		4	Activo
		100		3	Lig. activo
		50		3	Lig. activo
		25		3	Lig. activo
Pt(Sulfapiridazina)$_2$(I)$_2$(OH)$_2$	,,	800	,,	3	Lig. activo
		400		3	Lig. activo
		200		3	Lig. activo
		100		2	Inactivo
cis-Pt(Sulfapiridazina)(I)$_2$	*T. congolense*	800	,,	3	Lig. activo
		400		2	Inactivo
		200		2	Inactivo
		100		2	Inactivo
cis-Pt(Sulfamoxol)$_{2\,1}$(I)$_2$	,,	400	,,	3	Lig. activo
		200		3	Lig. activo
		100		2	Inactivo
		50		2	Inactivo
Pt(Sulfamoxol)$_2$(I)$_2$(OH)$_2$	,,	400	,,	3	Lig. activo
		200		3	Lig. activo
		100		3	Lig. activo
		50		2	Inactivo
cis-Pt(Sulfaetidiol)$_2$(I)$_2$	,,	400	,,	3	Lig. activo
		200		3	Lig. activo
		100		2	Inactivo
		50		2	Inactivo

CLAVES: 5 – Tóxico, 4 – Activo. (Tiempo de sobrevivencia 2 T, ningún parásito detectable el día 8°). 3 – Ligeramente activo. (Tiempo de sobrevivencia T ± 2 días). 2 – Inactivo. (Tiempo de sobrevivencia cercano al de los testigos (T).

En general, podemos observar que la línea de infección parasitaria *T. brucei brucei* es más sensible que la línea de infección parasitaria *T congolense*, tanto frente a los complejos del Pt(II) como a los complejos del Pt(IV). En general no hay una relación directa entre la acatividad antitripanosómica y las cargas π electrónicas localizadas sobre los átomos de los ligandos L. En la actualidad estamos ensayando los complejos que mejor han funcionado sobre las líneas de infección parasitaria *T. brucei brucei* sobre otros tipos de tripanosomas, (*T, cruzi, T. evansi, T. rhodesiense*), así como sobre cepas de *Leishmania donovani*, para sondear así su potencial empleo "in vivo" y modo de acción sobre dichos parásitos. *Hasta la fecha, en la literatura hay únicamente algunas publicaciones dedicadas a los complejos del Pt(II) y Rh(II) o Rh(III) como agentes antitripanosómicos, pero se ha trabajado muy poco sobre el mecanismo de acción antitripanosómica (en general débil) de los complejos del Pt(IV) pertenecientes a las estructuras octaédricas Pt* $(L)_2(OH_2(I)_2$ (16, 19 20).

El complejo más interesante (tanto como agente potencial antitumoral como agente antitripanosómico), es decir cis-$Pt(L)_2(I)_2$ (donde L = 2-Isopropiltiazol), ha sido estudiado desde el punto de vista de su nefrotoxicidad (véase Figuras I a IV), que comprenden las fotografías 1 a la 13 y las explicaciones de las fotografías de microscopía electrónica y óptica (Fotografías 1 a la 13).

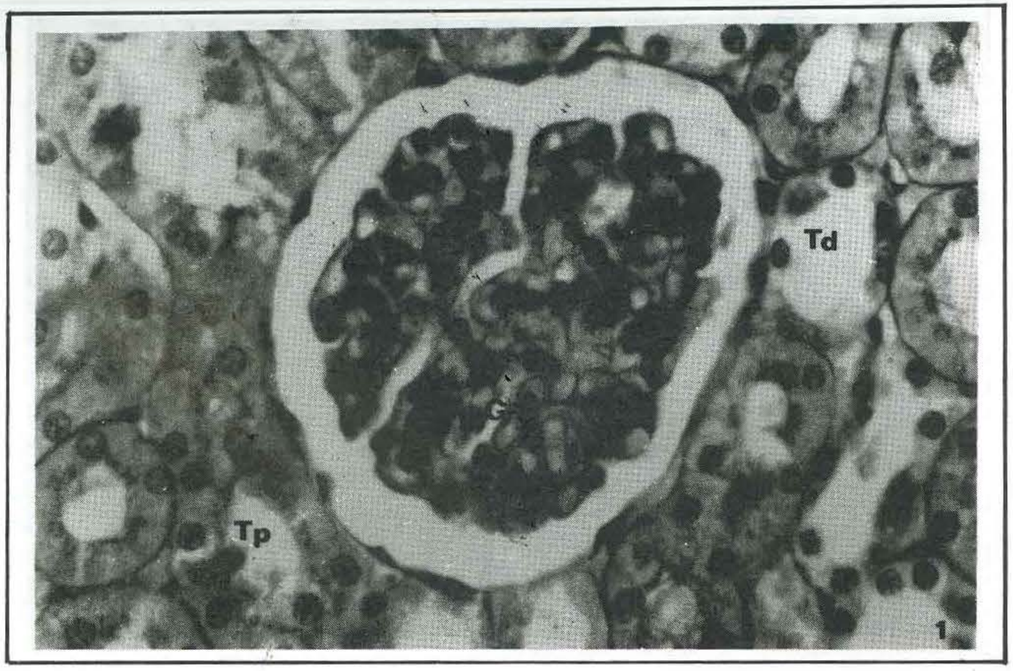
Observaciones

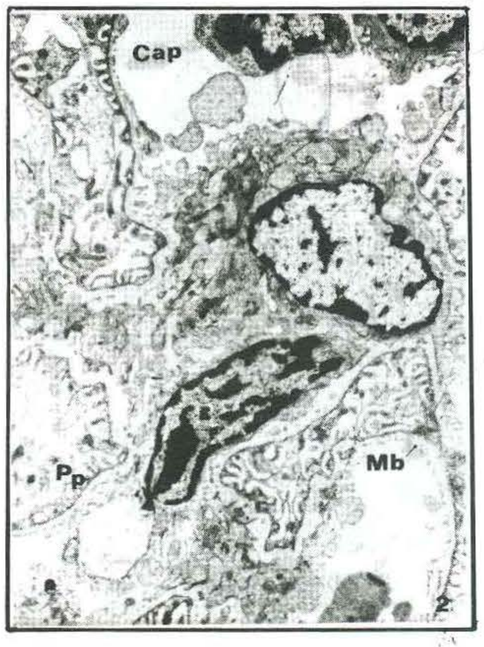
1. *Glomérulo*

El estudio a nivel estructural no revela alteraciones morfológicas (Fotografía 1). No se observan acúmulos de material denso en las barreras de filtración (membrana basal, células endoteliales y podocitos) (Fotografías 2 y 3).

2. *Túbulos proximales y distales*

Llama la atención tanto a nivel de microscopía óptica como la microscopía electrónica la intensa dilatación de la luz tubular con aplanamiento de las células epiteliales (Fotografías 4 y 11). También existe una ampliación del espacio intersticial intertubular, apareciendo áreas ópticas y electrónicamente vacías (Fotografía 13). Los túbulos proximales son los que presentan una mayor afectación estructural por la acción del complejo objeto de estudio, destacando una disminución de las microvellosidades que forman el ribete en cepillo (Fotografías 5, 6, 7, 8 , 9, y 10), la existencia de una intensa vacualización de distribución difusa que parece tener un origen de dilatación de los pliegues interbasales (Fotografías 9 y 10). Los núcleos presentan menor tamaño adquiriendo una forma irregular con intensa condensación de la cromática junto a la membrana nuclear (hipercromatosis) (Fotografías





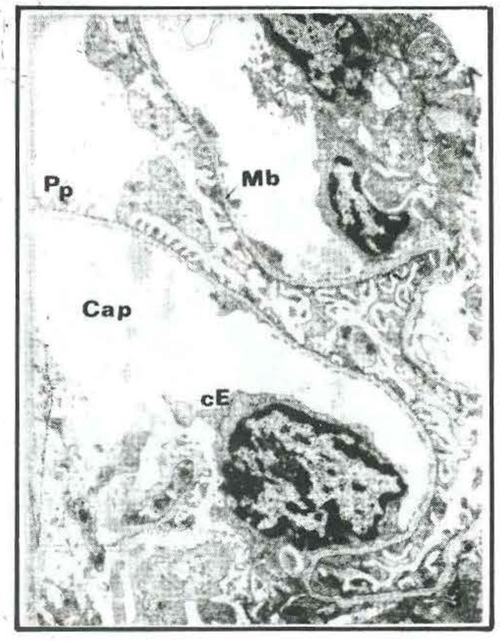
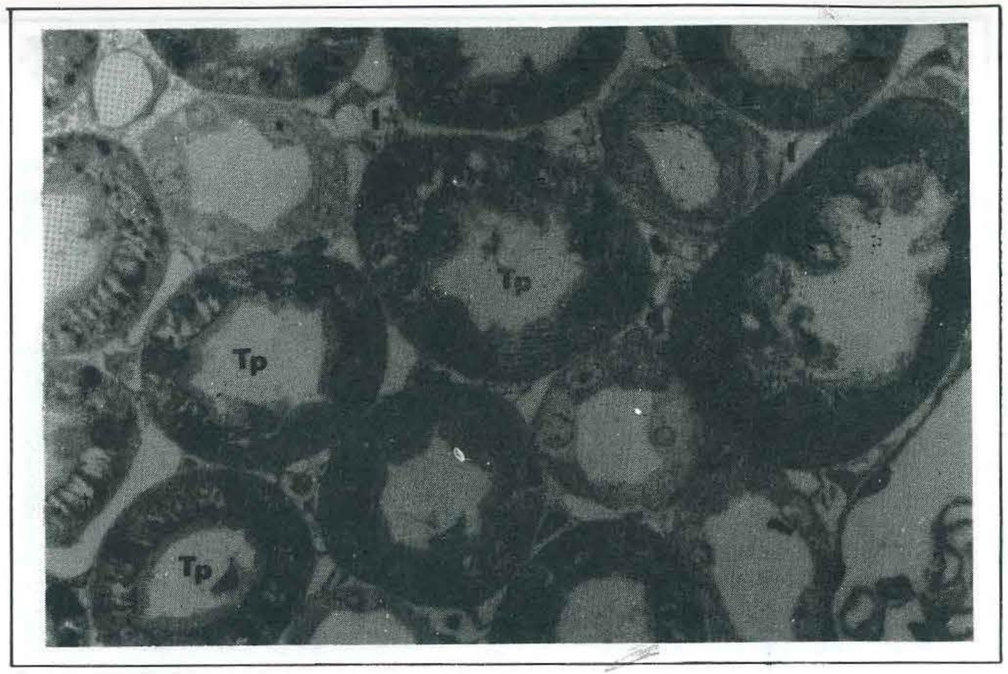
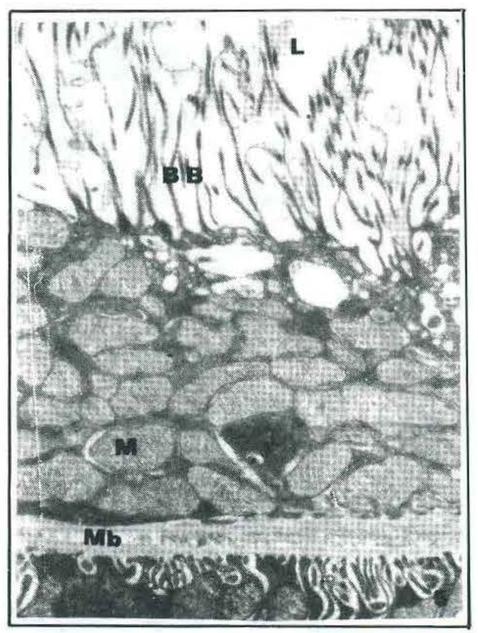


Figura 1.- (Comprende fotografías 1, 2, 3).- Figuras que muestran el glomérulo de rata tratada. Su morfología es normal. G = glomérulo; Td túbulo distal; Cap. = asa capilar; Mb = Membrana basal; Pp = pies de células epiteliales; Ce = célula endotelial. Fig 1.) (x 500) Fig. 2 y 3 (x 4400).





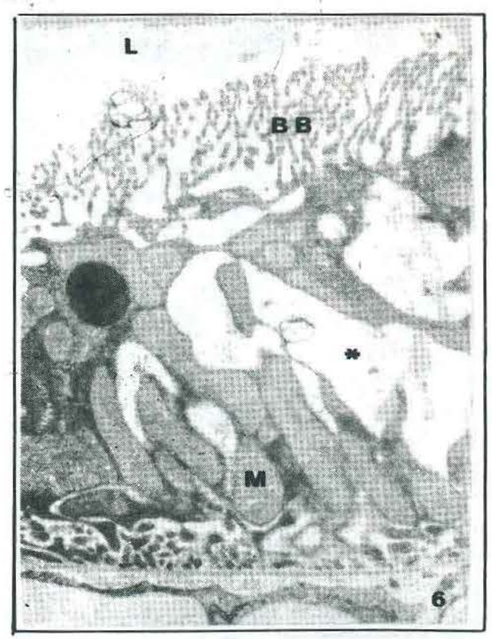
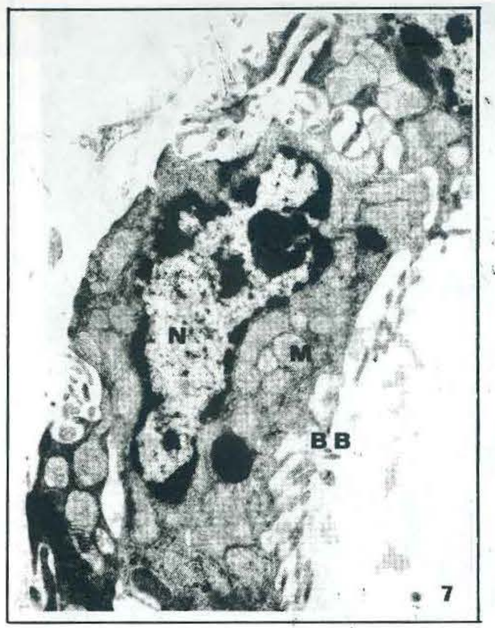
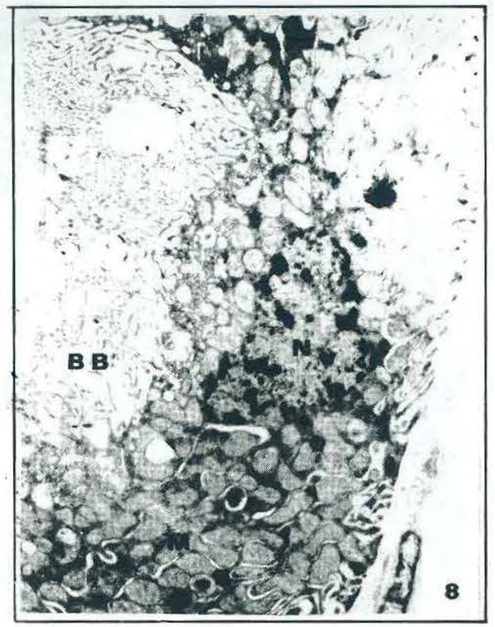


Figura 2.– (Comprende fotografías 4, 5, y 7).– Túbulos contorneados proximales (Tp) que muestran una dilatación de su luz y vacuolas columnares en el citoplasma ( ). Ampliación de los espacios intersticiales (I). (x 500). Túbulos contorneados proximales de un animal tratado. Se observa una pérdida de ribete en cepillo (BB) y una vacualización (*) del citoplasma celular. (x 10500).





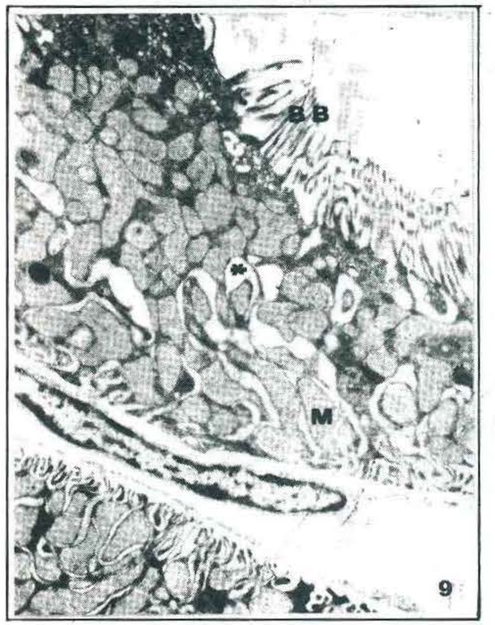


Figura 3.-(Comprende las fotografías 7, 8, 9, 10). Túbulos contorneados proximales en los que se observa un aplanamiento de las células epiteliales, pérdida del ribete en cepillo (BB), el nucleo (N) retraído, de contorno irregular y con hipercromatosis; vacualización (*) del citoplasma celular y un incremento del número de mitocondrias (M). Fotografía 7 (x 10500). Fotografías 8, 9, y 10 (x 6600).

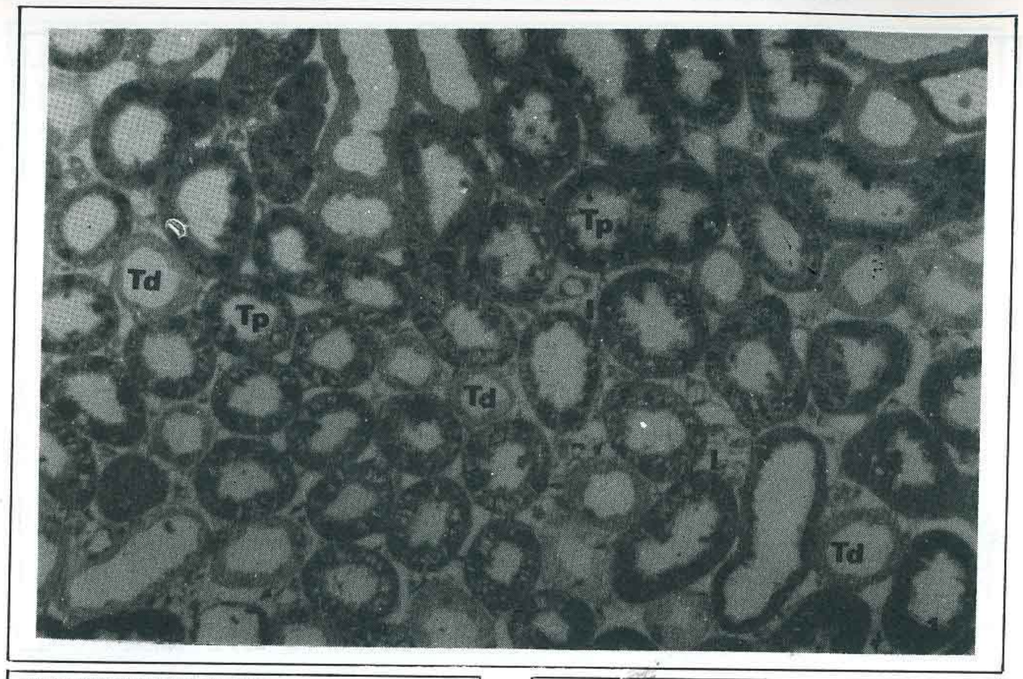


Figura 4.– (Comprende las fotografías 11, 12 y 13). Fotografía 11.– Panorámica de la zona cortical del riñón de una rata tratada en la que se observan túbulos proximales (Tp) y distales (Td) con la luz dilatada y aplanamiento celular. Ampliación de espacio intersticial (I). (x 400). Fotografía 12.– Detalle de un túbulo contorneado distal de una rata tratada en el que se observa un aplanamiento de la célula epitelial con la consiguiente pérdida de los pliegues interbasales y escasez de mitocondrias (x 10500). Fotografía 13.– Espacio intersticial de una rata tratada (x 45400).

7, 8 y 10). No se observa incremento en el número de lisosomas ni en la densidad de la membrana basal que rodea los túbulos, con relación a los animales del grpo control.

En los túbulos distales las células epiteliales adoptan una morfología con la pérdida de los pliegues interbasales. El citoplasma presenta una menor densidad de orgánulos, especialmente de mitocondrias (Fotografía 12).

En el estudio que hemos realizado sobre la nefrotoxicidad de este complejo, la observación que más llama la atención es la ausencia de cuerpos densos, estructuras que la mayor parte de los autores (29–32) consideran como acúmulos del metal ó de sus metabolitos . Tampoco hemos observado dilataciones en las crestas mitocondriales (29), aunque si existe un incremento en la relación mitocondrias/citoplasma que puede ser consecuencia, tanto de la disminución del volumen celular por el aplanamiento que sufren las células como el incremento del número de mitocondrias.

En las células que forman los túbulos proximales diferenciamos dos tipos de formaciones vacuolares; vacuolas esféricas localizadas en la zona apical, que se forman como consecuencia de los procesos de pinocitosis y con respecto a otros trabajos (29) no encontramos incremento ni en tamaño ni en número; y las vacuolas que aparecen dispersas por todo el citoplasma, que a nivel óptico tienen una apariencia columnar, y cuyo origen parece estar en la dilatación de los pliegues interbasales. A nivel nuclear hemos observado un hipercromatosis generalizada, no observando, sin embargo, segregación nucleolar (29).

En las células de los túbulos distales no se aprecian alteraciones estruturales significativas, únicamente se puede hablar de una disminución del número de mitocondrias y una pérdida de pliegues interbasales. No hemos observado nigún incremento en el contenido de glucógeno (29), alteración que algunos autores (33) consideran debido al incremento de los niveles de Ca^{++}, que producen algunos de estos complejos.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Sra. Rocío Tena por la ayuda dada en la realización de los estudios de nefrotoxicidad. El Profesor Dr. D.G. Craciunescu agradece a la "CAICYT" (Madrid) la ayuda dada en la realización de esta investigación (Proyecto 1529/82 subvencionado por el 'CAICYT"–Madrid). Asímismo el Prof. Dr. Craciunescu agradece a la casa "Johnson Matthey Chemicals" (Inglaterra) y a la casa "Platinum Rustenburg Mines" (Sur Africa) por las sales del Pt(II) recibidas gratuitamente.

Bibliografia

(1) Craciunescu, D., Molina, C., Carvajal, R. M., Doadrio Lopez, A Berger, M. Guirvu. (1986) *An. Real Acad. Farm.* 52:45-64.

(2) CRACIUNESCU, D. Y COL. (1985) *An. Real Acad. Farm.* 52:33.
(3) CRACIUNESCU, D. Y COL. (1984) *An. Real Acad. Farm.* 50:389.
(4) CRACIUNESCU, D. Y COL (1982) *Chem. Biol. Int.* 42:153.
(5) CRACIUNESCU, D. Y COL. (1984) *Europ. J. Med. Chem.* 4:353.
(6) CRACIUNESCU, D. Y COL. (1981). *J. Pharm. Belg.* 4:353.
(7) CONNORS T. A. Y COL. (1972) *Chem. Biol. Int.* 5:415.
(8) GALE, G. Y COL. (1981) *J. Clin. Hematol. Oncol.* 11:4.
(9) RUIZ PEREZ, L. M., OSUNA, A. CRACUNESCU, D., GAMARRO, F. Y DOADRIO LOPEZ A. (1986) *Drug Research,* 36(1):13–16.
(10) RUIZ PEREZ, L.M., OSUNA, A., CRACIUNESCU, D., GAMARRO, F. Y DOADRIO LOPEZ, A. Comunicación al "Congreso Internacional de Química Terapéutica". Pamplona (España) Septiembre 1983
(11) CRACIUNESCU, D., ERCOLI, N., JUDICE, G. D. ALLOYA, M. G. Y DOADRIO LOPEZ, A. (1983) Comunicación al "Congreso Internacional de Química Terapéutiaca', Pamplona, España. Septiembre, 1983.
(12) FARRELL, N. Y COL. (1984) *J. Biochem. Pharmacology* 33 (7) 961–971.
(13) FARRELL, N. COL, Comunicación al "The Fourth Int. Congress on Platinum Complexes in Cancer Chemotherapy" (Burlington, Vermont, USA) Junio 1983.
(14) FARRELL, N. Comunicación privada al Prof. Dr. D. G. Craciunescu (Julio, 1984).
(15) WYSOR M. S Y COL. (1983) *Science* 217 454.
(16) FARRELL N Y COL. *J. Biochem. Pharmacology* 33:961-971 (1984); ibid *Parasitology* 85:14 (1982); y *Chem. Soc. Chem. Commun.* 331 (1982).
(17) FARREL, N. Comunicación privada al Prof. Dr. D. G. Craciunescu (Marzo 1984).
(18) OSUNA, A , CRACIUNESCU, D. RUIZ PEREZ, L. M., GAMARRO, F , CASTANYS, F. Y DOADTRIO LOPEZ A. Ponencia presentada al 'Congreso Internacional de Parasitología" Ankara, Turquía, Noviembre de 1985.
(19) OSUNA, A., CRACIUNESCU, D , RUIZ PEREZ, L. M., GAMARRO, F., GASTANYS, F. Y DOADRIO LOPEZ. A. Ponencia presentada "Congreso Nacional de Parasitologia" Barcelona, España, Julio, 1983.
(20) OSUNA, A,. CRACIUNESCU, D., RUIZ PEREZ, L. M., GAMARRO, F., CASTANYS, F. DOADRIO LOPEZ A. (1987) *J. Parasitology* (en imprenta): ibid. *Trop. Med. Parasit* en imprenta).
(21) MEISCHEN, S J. Y COL(1976) *J. Natl. Cancer Inst.* 57:841.
(22) CLEARE M. J. Y COL. (1978) *Coord. Chem Res.* 12:315.
(23) SCORZZA, J.V. CHAVEZ, P., CRACIUNESCU, D., DOADRIO LOPEZ, A. (1986) "Archivos de Malariología y de Sanidad Ambiental" en imprenta.
(24) GAYRAL, PH. Comunicación privada al Profesor Dr. D. G. Craciunescu, (Febrero 1986).
(25) CRACIUNESCU, D. Y COL. (1985) *An. Real Acad. Farm.* 51:241–268.
(26) CRACIUNESCU, D., GASTON DE IRIARTE, E., GOMEZ, A., DOADRIO, LOPEZ A. Ponencia presentada al "Primer Congreso Latino Americano de Cáncer" (Madrid, España). Noviembre 1985.
(27) GOMEZ, A., GASTON DE IRIARTE, E., CRACIUNESCU, D., DOADRIO LOPEZ, A. Ponencia presentada a las 'Jornadas Nacionales de Toxicología". (Córdoba, España) Noviembre 1985.
(28) SHAFRANSKII, N. Y COL. (1974). *Russian J. Inorg. Chem.* 19 (8), 1202.
(29) AGGARWAL, S. K., WHITEOUS, M. W., RAMACHANDRA, C. Ultrastructural effects of Cisplatin. Prestayko, A. W., Crooke S. T., Carter, S. K. eds. "Cisplatin". New York, Academic Pres, 1980, pp.79-111.

(30) COOK, R. J., BURNSTOCK, G. (1976) *J. Neurocytol,* 5:171–194.
(31) DASKAL, Y., PRESTAYKO, A W., CROOKE, S T. (1980) Morphological manifestations of Cisplatain analogs in rats: An ultrastructural study. Prestayko, A. W., Crooke, S. T. Carter S. K. eds. "Cisplatin". New York, Academic Pres, pp. 249-269.
(32) GOMEZ, A., SANCHEZ DE LEON, M. S., MOSQUERA, R. M. AZPARREN, J E., FERNANDEZ DE SIMON, L., GASTON DE IRIARTE, E. CRACIUNESCU, D G. Estudio experimental de diversos compuestos de Pt en ratas Wistar. VI Jornadas Toxicológicas Españolas. Córdoba. Noviembre, 1985, pp. 232.
(33) NAGUTA, N. Y RASMUSSEN, H. (1970) *Biochem. Biophys. Acta* 215:1-16.

Recibido: 13 Noviembre 1986