

**Estudio de las actividades farmacológicas duales
(antitumorales y antitripanosómicas) y del perfil toxicológico
de algunos nuevos complejos del Rh(I) y del Ir(I)**

D.G. CRACIUNESCU*, C. MOLINA, M.P. ALONSO,
E. PARRONDO IGLESIAS, A. DOADRIO LOPEZ y J.C. DOADRIO-VILLAREJO
*Departamento de Química Inorgánica y Bioinorgánica.
Facultad de Farmacia. U.C.M., 28040-Madrid (España).*

E. GASTON DE IRIARTE
Departamento de Urología. Facultad de Medicina. U.A.M. 28034 Madrid (España).

C.I. GHIRVU
*Departamento de Química Física. Facultad de Tecnología Química.
"Institutul Politehnic Iasi", Iasi 6600 (Rumanía).*

N. ERCOLI
Instituto de Zoología Tropical. U.C.V. Caracas (Venezuela).

RESUMEN

En este trabajo se estudian las actividades antitumorales "In vivo" (tumores ascíticos de Landschutz, tumores ascíticos de Ehrlich, tumores leucémicos P388) y las actividades antitripanosómicas "in vivo" (*T. evansi* (venezueliense) *T. evansi* India, *T. congolense*) de unos 22 nuevos complejos organometálicos [Rh^{II} (COT) (L)]^o y [Ir^I (COT) (L)]^o, donde COT = ciclooctatetraeno y L = derivados de ditiocarbamatos o xantatos. Los nuevos complejos han sido caracterizados a través de métodos físico-químicos, y se ha realizado un cálculo O.M. Huckel para las moléculas de los ligandos (L) con el fin de obtener posibles relaciones estructura-actividad farmacológica. También se ha valorado el perfil toxicológico (toxicidades renales, hepáticas y sanguíneas) de los complejos más activos, mediante determinación de los parámetros bioquímicos y/o datos de microscopía óptica, de las ratas que recibieron ½ LD50 de los complejos.

Palabras clave: Complejos del Rh(I) y del Ir(I). Actividades antitumorales y antitripanosómicas.- Nefrototoxicidad.- Hepatotoxicidad. Hematotoxicidad.

SUMMARY

**Dual pharmacological action (antitumour and antitrypanocidal properties)
and toxicity of new Rh(I) and Ir(I) complexes.**

In this paper we report at first the "in vivo" antitumour (Landschutz ascitic, Ehrlich ascitic, P-388 Leukemic tumours) and antitrypanocidal effects (*T. evansi* (venezueliense) *T. evansi* India, *T. congolense*) displayed by 22 new organometallic neutral complexes belonging to the [Rh^I (COT) (L)]^o and [Ir^I (COT)

*Autor al que debe dirigirse toda la correspondencia.

(L)^o where COT = ciclotetraene and L = derivatiesves of ditiocarbamates or xanthates. The new complexes were characterized by physicochemical methods, and the M.O. Huckel's calculations were perfomed for pure ligands (L) molecules, en order to draw possibles structure-activity relationships. The nephrotoxicity, hepatotoxicity and hematotoxicity of the complexes were also studied (for 1/2 of their LD50 values), through the measure of the biochemical parameters (% mg creatinine, % mg ureea, "SGOT", "GOT" and L/N ratio) and the optical microscopy thecniques applied to the "target organs" (kidneys).

Key words: Rh(I) and Ir(I) complexes.- Antitumour and antitrypanocidal effects. Nephrotoxicity.- Hepatotoxicity.- Hematotoxicity.

I. INTRODUCCION

En los último cinco años, a partir de la investigaciones realizadas por N. Farrell (1-3) en Brasil, se ha tratado en dilucidar el mecanismo de acción antitripanosómica ("in vitro"/"in vivo"), que poseen varios antitumorales pertenecientes al grupo del platino, es decir, los complejos del Pt(II), Pt(IV), (Os(II), Os(III), Os(IV), Ru(III), Ru(II), Ir(III), Rh(III), por los equipos de investigación españoles dirigidos por D.G. Craciunescu y colaboradores (4-8), A. Osuna y colaboradores y por L.M. Ruiz-Pérez y colaboradores (9-12). No obstante, las actividades antitripanosómicas de los complejos Rh(I) y del Ir(I) han sido poco estudiadas (4), si bien su acción antimitótica "in vivo" ha sido detalladamente descrita (13-15). Tomando en cuenta las notables actividades farmacológicas duales (antitumorales y antitripanosómicas) que presentan los complejos neutros del Rh(I) pertenecientes a las estructuras generales $[Rh^I(CO)_2(L)]^o$ y $[Rh^I(CO)_2(L)(Cl)]^o$, donde L = derivado de ditiocarbamatos, xantatos, derivados de sulfonamida y/o derivados de tiazol descritos recientemente por Craciunescu y colaboradores (4, 16-18) hemos vuelto a estudiar los nuevos (unos 22) complejos neutros pertenecientes a las series $[Rh^I(COT)(L)]^o$ e $[Rh^I(COT)(L)]^o$, donde COT = ciclooctatetraeno y L = derivados de ditiocarbamatos y/o xantatos, del punto de vista de sus actividades armacológicas duales (antitripanosómicas y antitumorales), así como para valorar su perfil toxicológica. Se han empleado los siguientes ligandos (L): morfolin ditiocarbamato; iso-propil ditiocarbamato; piperacin ditiocarbamato; alilxantato; n-propilxantato; etilxantato; ciclopentilxantato; butilxantato; isopentilxantato; n-pentilxantato; isobutilxantato.

Los nuevos complejos organometálicos neutros, de estructuras cuadrado plana, del Ir(I) y del Rh(I) han sido caracterizadas mediante dato del análisis químico y de sus espectros I.R. Se han realizado también cálculos (diagramas) de O.M. Huckel de los ligandos (L) puros, para establecer posibles relaciones estructura-actividades farmacológicas "in vivo". También se ha valorado el perfil toxicológico de los nuevos complejos, a través de las medidas de los parámetros bioquímicos (% mg creatinina, % mg urea, niveles enzimáticos "SGOT", "GOT" y conciente L/N), en la sangre de las ratas que que recibieron 1/2 de la LD50 de los complejos por vía i.p. Finalmente se ha realizado un estudio de microscopía óptica de los cortes semifinos de los riñones de las ratas tratadas con el complejo más interesante, es decir

$[Rh^{II}(COT)(L)]^o$ donde L = morfolin ditiocarbamato para 1/2 de su LD50 (LD50 = 820 mg/Kg vía i.p.).

Se han valorado los efectos anticancerosos "in vivo" de los 22 nuevos complejos neutros, organometálicos, del Rh(I) y del Ir(I) frente a las ratas portadoras de tumores ascíticos de Landschutz, tumores ascíticos Ehrlich, tumores leucémicos P-388, así como sus efectos antitripanosómicos "in vivo" frente a las ratas infectadas con las siguientes líneas de infección parasitaria: *T. evansi* (venezueliense), *T. evansi* India, *T. congolense*.

II. PARTE EXPERIMENTAL

1. Síntesis de los nuevos complejos $[Rh^I(COT)(L)]^o$ e $[Ir^I(COT)(L)]^o$, donde L = ditiocarbamato o xantato y COT = ciclooctatetraeno.

Los nuevos complejos del Rh(I) se han sintetizado según el siguiente método general: 1 g del dímero $[Rh^I(COT)_2(Cl)_2]^o$ disuelto en 100 cm³ de mezcla caliente (60-80 °C) etanol-diclorometano (1:1), se ha hecho reaccionar bajo fuerte agitación y calentamiento (ebullición) con la cantidad correspondiente de los ligandos L, (en forma de sales potásicas, L⁻ K⁺), disuelta en una mezcla caliente (80-85 °) de etanol-agua (1:1) unos 200-250 cm³.

La mezcla total de reacción se recalienta (ebullición) bajo fuerte agitación, hasta que alcanza 1/3 - 1/4 de su volumen inicial. Se deja reposar 2-3 horas a temperatura ambiente, y de los complejos (precipitados microcristalinos de color amarillo o amarillo-anaranjado) se filtran sobre crisoles G4 y se lavan con 50 cm³ etanol y con 100 cm³ éter etílico. Los complejos se dejan secar al aire durante 48 horas, ya que son estables a la exposición de la luz y al aire. Todos los complejos $[Rh^I(COT)(L)]^o$ son solubles en DMSO, DMF, CH₂Cl₂, pero son poco solubles en el agua (0,05-0,1 mg/ml), alcoholes, piridina. Se ha trabajado siempre respetando las estequiometrías $Rh(I): L = 1:1$.

Los nuevos complejos del Ir(I), pertenecientes a la estructura general $[Ir^I(COT)(L)]^o$ se han preparado según el mismo método general de obtención empleando para sintetizar los complejos del Rh(I) empleando como producto de partida el dímero $[Ir^I_2(COT)_2(Cl)_2]^o$ que se hizo reacciona con los ligandos (L) en forma de sales potásicas L⁻ K⁺, respetando siempre las estequiometrías $Ir(I): L = 1:1$.

Los dímeros $[Rh^I_2(COT)_2(Cl)_2]^o$ y, respectivamente $[Ir^I_2(COT)_2(Cl)_2]^o$ se han obtenido a partir de RhCl₃·6H₂O o de IrCl₃, según los métodos indicados por Cotton y Wilkinson, así como por G. Cocevar y colaboradores (19-20).

Los rendimientos de obtención rondan los valores de 75-85% para los complejos del Rh(I) y el rango de 62-68% para los complejos del Ir(I). Los complejos $[Ir(COT)(L)]^o$ son solubles en DMSO, DMF, CH₂Cl₂, pero

son poco solubles en el agua (0,01 mg/ml), alcoholes y piridina. Son estables a la exposición del aire y a la luz, y lo mismo que los complejos $[\text{Rh}^{\text{I}}(\text{COT})(\text{L})]^{\circ}$ no sufren (a temperatura ambiente) procesos de hidrólisis.

Todos los ligandos (L), empleados en forma de sales potásicas ($\text{L}^- \text{K}^+$) han sintetizado en el Departamento de Química Inorgánica y Bioinorgánica de la Facultad de Farmacia (UCM, Madrid), según los procedimientos generales indicados en la literatura. Los complejos del Rh(I) y del Ir(I) han sido recristalizados a partir de mezclas calientes (70-80 °C) DMSO- CH_2Cl_2 -Etanol (1:2:1).

2. Análisis químicos

Los complejos $[\text{Rh}^{\text{I}}(\text{COT})(\text{L})]^{\circ}$ e $[\text{Ir}^{\text{I}}(\text{COT})(\text{L})]^{\circ}$ han sido atacados en caliente con mezcla HCl concentrado - HNO_3 concentrado (3:1) "agua regia". El contenido en % Rh y % Ir se ha valorado por espectroscopía atómica de absorción con la ayuda de un aparato AA Techtron 60. Los contenidos en N % han sido hallados por el método de Kjeldhal; los contenidos en S %, C %, O %, H %, han sido valorados por métodos standard de microcombustión en el Departamento de Química Inorgánica y Bioinorgánica, Facultad de Farmacia (UCM) y/o en colaboración con los "Laboratorios Pascher" Bonn, R.F.A. Los complejos no contienen cloro en sus estructuras (hallando siempre 0 % de Cl).

Los resultados de los análisis químicos, no difieren en $\pm 0,4\%$ de los contenidos calculados (teóricos) para las estructuras propuestas -es decir complejos organometálicos, neutros, de estructura presumiblemente cuadrada plana- $[\text{Rh}^{\text{I}}(\text{COT})(\text{L})]^{\circ}$ e $[\text{Ir}^{\text{I}}((\text{COT})(\text{L}))]^{\circ}$ lo que apunta hacia el hecho de que las estructuras propuestas son correctas.

3. Espectros I.R.

Los espectros I.R. de los nuevos complejos $[\text{Rh}^{\text{I}}(\text{COT})(\text{L})]^{\circ}$ e $[\text{Ir}^{\text{I}}(\text{COT})(\text{L})]^{\circ}$ y de los ligandos en forma de sales potásicas ($\text{L}^- \text{K}^+$) han sido obtenidos en pastillas en KCl, con la ayuda de un espectrofotómetro I.R. Perkin Elmer 457 (rango 4000-250 cm^{-1}). El Espectro I.R. del ciclooctatetraeno, se ha obtenido en "Nujol" y/o como disolución en CH_2Cl_2 .

4. Cálculos O.M. Huckel

Los diagramas O.M. Huckel para las moléculas de los ligandos (L) puros han sido realizados empleando los parámetros indicados por Streitwieser (21), en el "Centrul de Calcul" Iasi, Rumanía). Para las formas canónicas que implican la existencia de una deslocalización electrónica sobre la "pinza"

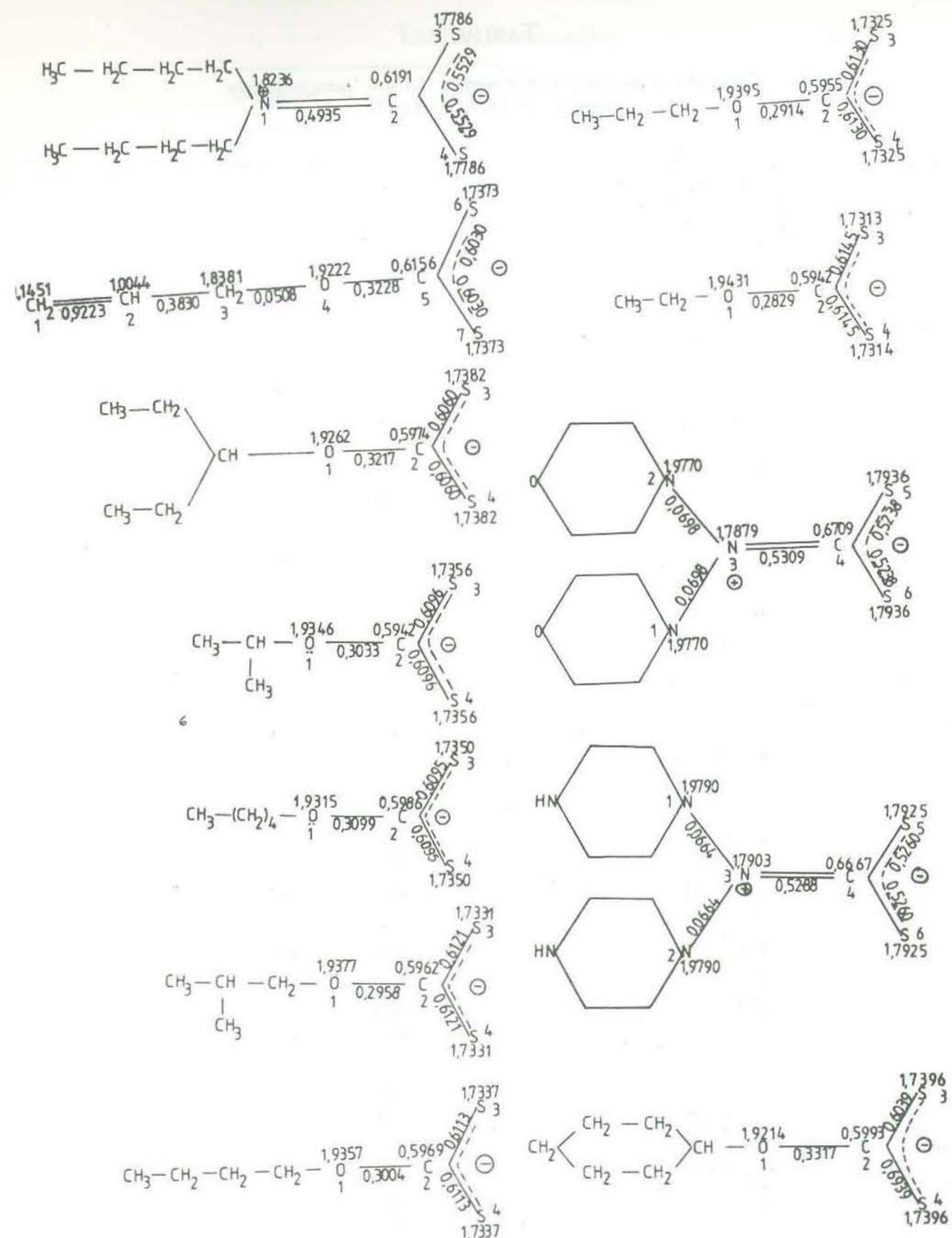
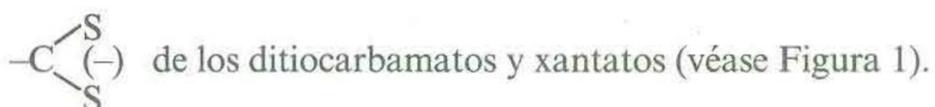


Figura 1.- Diagramas O.M. Huckel para las moléculas de los ligandos (L) ditiocarbamatos y xantatos.

TABLA I

Resultados de los ensayos antitumorales "in vivo" para los nuevos complejos del Rh(I) y del Ir(I).

Complejos	Tumor	Dosis mg/Kg	T/C %
[Rh ^I (COT)(L ₁)]	Ascítico	600	210
	Landschutz	400	205
		200	155
[Rh ^I (COT)(L ₂)]	"	400	180
		200	155
		100	150
[Rh ^I (COT)(L ₃)]	"	400	170
		200	165
[Rh ^I (COT)(L ₄)]	"	400	160
		200	150
[Rh ^I (COT)(L ₅)]	"	400	150
[Rh ^I (COT)(L ₆)]	"	400	160
[Rh ^I (COT)(L ₇)]	"	400	155
[Rh ^I (COT)(L ₈)]	"	400	160
[Rh ^I (COT)(L ₉)]	"	400	155
[Rh ^I (COT)(L ₁₀)]	"	400	160
[Rh ^I (COT)(L ₁₁)]	"	400	160
		200	158
[Rh ^I (COT)(L ₁)]	Ascítico de Ehrlich	600	185
		400	170
		200	150
[Rh ^I (COT)(L ₂)]	"	400	168
		200	150
[Rh ^I (COT)(L ₃)]	"	400	162
[Rh ^I (COT)(L ₄)]	"	400	150
[Rh ^I (COT)(L ₅)]	"	400	160
[Rh ^I (COT)(L ₆)]	"	400	150
[Rh ^I (COT)(L ₇)]	"	600	158
		400	150
[Rh ^I (COT)(L ₈)]	"	600	150
		400	150
[Rh ^I (COT)(L ₉)]	"	400	155
[Rh ^I (COT)(L ₁₀)]	"	400	162
[Rh ^I (COT)(L ₁₁)]	"	400	166
[Rh ^I (COT)(L ₁)]	Tumores P388 (leucémicos)	400	145
		200	140
		100	137
[Rh ^I (COT)(L ₂)]	"	400	130
[Rh ^I (COT)(L ₃)]	"	400	135
		200	140

TABLA I (Continuación)

Complejos	Tumor	Dosis mg/Kg	T/C %
[Rh ^I (COT)(L ₄)]	Tumores P388 (leucémicos)	400	127
[Rh ^I (COT)(L ₅)]	"	400	125
[Rh ^I (COT)(L ₆)]	"	600	125
[Rh ^I (COT)(L ₇)]	"	600	127
[Rh ^I (COT)(L ₈)]	"	600	130
[Rh ^I (COT)(L ₉)]	"	400	130
[Rh ^I (COT)(L ₁₀)]	"	400	135
[Rh ^I (COT)(L ₁₁)]	"	400	125
[Ir ^I (COT)(L ₁)]	Ascítico de Landschutz	600	200
		400	158
		200	150
[Ir ^I (COT)(L ₂)]	"	400	170
[Ir ^I (COT)(L ₃)]	"	400	150
[Ir ^I (COT)(L ₄)]	"	400	155
[Ir ^I (COT)(L ₅)]	"	400	158
[Ir ^I (COT)(L ₆)]	"	400	160
[Ir ^I (COT)(L ₇)]	"	400	162
[Ir ^I (COT)(L ₈)]	400	150	
[Ir ^I (COT)(L ₉)]	"	400	155
[Ir ^I (COT)(L ₁₀)]	"	400	150
[Ir ^I (COT)(L ₁₁)]	"	400	168
[Ir ^I (COT)(L ₁)]	Ascítico de Ehrlich	600	160
		400	150
[Ir ^I (COT)(L ₂)]	"	400	155
[Ir ^I (COT)(L ₃)]	"	400	150
[Ir ^I (COT)(L ₄)]	"	600	150
		400	155
		200	150
[Ir ^I (COT)(L ₅)]	"	400	150
[Ir ^I (COT)(L ₁)]	Tumores P388 (leucémicos)	600	130
		400	127
		200	125
[Ir ^I (COT)(L ₂)]	"	400	125
[Rh ^I (COT)(L ₃)]	"	400	126
[Rh ^I (COT)(L ₄)]	"	400	125
[Rh ^I (COT)(L ₅)]	"	600	127
		400	125

Observación: Los complejos fueron administrados como suspensiones en 5% glucosa en el agua, por vía i.p. (única inyección). En la Tabla I aparecen únicamente las dosis que inducen (para cada complejo) los mayores valores T/C %. Los complejos que no aparecen en la Tabla, han presentado nula actividad antitumoral (T/C = 100%) para los tres tumores ensayados. Claves ligando L: L₁ = morfolinditiocarbamato; L₂ = isopropil ditiocarbamato; L₃ = piperazin ditiocarbamato; L₄ = alil xantato; L₅ = n-propil xantato; L₆ = etil xantato; L₇ = ciclopropil xantato; L₈ = butil xantato; L₉ = isopentil xantato; L₁₀ = n-pentil xantato; L₁₁ = iso-butil xantato. El "Neoplatin" en dosis de 5 mg/Kg induce valores T/C % = 265%, 241% y 218% frente a los tumores ascíticos de Landschutz, Ehrlich y P-388, respectivamente.

5. Ensayos antitumorales "in vivo".

Los complejos han sido administrados como suspensiones en disoluciones 5% glucosa en agua, por vía i.p. a las ratas portadoras de tumores líquidos ascíticos Landschutz, ascíticos de Ehrlich, y P-388 (leucémicos). Los valores T/C% indican el cociente de los tiempos de supervivencia de los animales tratados (T) y control (C).

En el caso de los tumores de Landschutz y de Ehrlich, valores T/C % 150% indican "Actividad", en el caso de los tumores leucémicos líquidos P388, valores T/C 125% indican "Actividad". Valores T/C% comprendidos entre 125% y 100% indican "Actividad marginal"; T/C % = 100% indican falta de actividad anticancerosa. Los ensayos anticancerosos "in vivo" se han realizado con el "National Cancer Institute" (USA) y/o en colaboración con otros Institutos anticancerosos. Para cada dosis de cada uno de los complejos del Rh(I) e Ir(I) ensayados (línea única de infección) se han empleado lotes de 6 (seis) ratones de la cepa "Swiss white mice", lo mismo que en el caso de los "Controles" (véase Tabla I).

6. Ensayos antitripanosómicos "in vivo"

Los complejos han sido administrados por vía s.c. como suspensiones en "tween" (una única inyección) a un lote de 6 ratas (cepa "Swiss white mice") para cada dosis de cada complejo ensayado. Las ratas estaban infectadas con 10^5 parásitos (vía i.p. pertenecientes a las líneas de infección parasitarias: *T. evansi* (venezueliense), *T. evansi* India, *T. congolense*). Estos ensayos midieron el tiempo de supervivencia de los animales tratados, frente al tiempo de supervivencia (T) de los animales no tratados e infectados, así como (en el caso en el cual se alcanzan valores de supervivencia 2T o superiores) la parasitemia medida en la sangre de las ratas el día 8; según los protocolos del "Institute of Veterinary Medicine" (Berlín, RFA) y según lo descrito en otros trabajos nuestros (4-8, 16-18). Los complejos se administraron 1 hora después de infectar a las ratas por vía i.p.

Los ensayos antitripanosómicos han sido realizados en colaboración con el "Instituto de Zoología Tropical" UCV (Caracas, Venezuela), "Institute of Veterinary Medicine" (Berlín, RFA) y/o con otros Institutos de Medicina Tropical (véase Tabla II).

7. Valores del perfil toxicológico de los complejos [Rh^I (COT) (L)]^o e [Ir^I (COT) (L)]^o

Tomando en cuenta el hecho de que los valores LD50 (vía i.p. administración dosis únicas como suspensiones en "Tween" a las ratas de la cepa "Swiss white mice") de los complejos del Ir(I) están en el rango de 700-1500 mg/Kg, y en el caso de los complejos del Rh(I) están en el rango de 500-900

TABLA II

Resultados de los ensayos antitripanosómicos "in vivo"
con los nuevos complejos del Rh(I) y del Ir(I).

Complejo	Parásitos	Dosis mg/Kg	Código Actividad
(Rh ^I (COT) (L ₁))	<i>T. evansi</i> venezueliense	400	Activo
		200	Activo
		100	Marginalmente activo
(Rh ^I (COT) (L ₂))	"	400	Marginalmente activo
(Rh ^I (COT) (L ₃))	"	400	"
(Rh ^I (COT) (L ₄))	"	400	"
(Rh ^I (COT) (L ₅))	"	400	"
(Rh ^I (COT) (L ₁))	<i>T. evansi</i> (India)	400	"
(Rh ^I (COT) (L ₂))	"	600	"
(Rh ^I (COT) (L ₃))	"	600	"
(Rh ^I (COT) (L ₄))	"	600	"
(Rh ^I (COT) (L ₁))	<i>T. congolense</i>	600	"
(Rh ^I (COT) (L ₂))	"	600	"
(Rh ^I (COT) (L ₃))	"	600	"
(Rh ^I (COT) (L ₁))	<i>T. evansi</i> (venezueliense)	600	"
		800	"
		1000	"

Claves de actividad: Activo (los animales sobreviven 2T, ningún parásito detectable en la sangre el 8º día). Marginalmente activo: Los animales sobreviven 2 días (T + 2) a los controles. Inactivo: los animales mueren el día T o el día T + 1 (siendo T el número de días que viven los animales "control" infectados). Los complejos se administraron por vía s.c. como suspensiones en "Tween". 1 hora después de infectar los animales con 10^5 parásitos (por vía i.p.). Se utilizaron 6 ratas (cepa "Swiss white mice") para cada dosis empleada. Los complejos que no aparecen en la Tabla II han sido "inactivos". Las claves de los ligandos (L₁ - L₁₁) son idénticas a las de la Tabla I.

mg/Kg, se han administrado dosis equivalentes a 1/2 LD50 (única inyección, vía i.p. como suspensión de "Tween") a un lote de 6 animales, y se han valorado a las 192 horas después de la administración en la sangre de las ratas, los potenciales nefrotóxicos (% mg urea, % mg creatinina), hepatotóxico (niveles enzimáticos "SCOT" y "COT" expresados en unidades enzimáticas) y hematotóxicos (cociente L/N - donde L = Linfocitos y N = Neutrófilos) (véase la Tabla III).

El complejo más activo (como agente antitumoral y antitripanosómico), es decir [Rh^I (COT) (L)]^o donde L = morfolín distiocarbamato, ha sido estudiado desde el punto de vista de su nefrotoxicidad, mediante datos de

TABLA III

Resultados de la valoración de la sangre de los parámetros bioquímicos que indican la toxicidad renal, hepática y sanguínea inducida por la administración de $\frac{1}{2}$ LD50 de los complejos del Rh(I) y del Ir(I) —medidas realizadas a las 192 horas—.

Complejo	% urea urea	% mg creatinina	"GOT"	"SGOT"	L/N
(Rh ^I (COT) (L ₁))	0,685	48,20	54,02	18,02	5,91
(Rh ^I (COT) (L ₂))	0,688	49,05	54,11	18,70	5,80
(Rh ^I (COT) (L ₃))	0,694	48,12	54,07	18,60	5,93
(Rh ^I (COT) (L ₄))	0,691	48,15	54,16	18,03	5,90
(Rh ^I (COT) (L ₅))	0,735	46,17	54,08	18,15	6,12
(Rh ^I (COT) (L ₆))	0,738	45,95	54,17	18,40	6,11
(Rh ^I (COT) (L ₇))	0,730	46,12	53,11	18,21	6,10
(Rh ^I (COT) (L ₈))	0,695	49,10	54,17	17,99	5,89
(Rh ^I (COT) (L ₉))	0,690	47,59	55,16	18,03	5,95
(Rh ^I (COT) (L ₁₀))	0,721	48,50	55,15	18,01	5,90
(Rh ^I (COT) (L ₁₁))	0,710	46,50	18,55		6,08
(Ir ^I (COT) (L ₁))	0,710	47,90	18,61	18,49	6,09
(Ir ^I (COT) (L ₂))	0,671	48,60	18,57	18,43	6,10
(Ir ^I (COT) (L ₃))	0,679	48,20	18,52	18,50	5,99
(Ir ^I (COT) (L ₄))	6,680	48,20	18,50	18,51	5,60
(Ir ^I (COT) (L ₅))	0,715	48,10	18,60	18,20	5,78
(Ir ^I (COT) (L ₆))	0,720	47,15	18,30	18,80	5,79
(Ir ^I (COT) (L ₇))	0,718	48,30	18,17	18,45	5,93
(Ir ^I (COT) (L ₈))	0,685	48,70	18,11	18,50	5,90
(Ir ^I (COT) (L ₉))	0,681	49,10	18,01	18,07	6,15
(Ir ^I (COT) (L ₁₀))	0,712	48,17	51,90	18,60	5,92
(Ir ^I (COT) (L ₁₁))	0,685	49,15	51,30	18,02	6,15
Controles	0,621	42,65	51,20	17,90	6,20

Los complejos han sido administrados vía i.p. como suspensiones en "Tween" y los parámetros valorados a los 192 horas en la sangre de las ratas que recibieron $\frac{1}{2}$ de la LD50 de los complejos.

Las claves de los ligandos (L) L₁ - L₁₁ son las empleadas en la Tabla I. Para cada complejo se ha empleado un lote de 6 (seis) ratas de la cepa "Swiss white mice", lo mismo que para los "Controles".

Los valores "GOT" y "SGOT" aparecen medidos en unidades enzimáticas "GOT" y "SGOT".

Cada uno de los valores que aparecen en esta Tabla, representa el promedio de 6 (seis) determinaciones. Los controles han sido constatados (para cada cepa parasitaria) por 6 ratones de la cepa "Swiss white mices").

microscopía óptica de los cortes semifinos de los riñones (teñidos según indicamos en otros trabajos nuestros (4-8) de las ratas que recibieron $\frac{1}{2}$ LD50 de este complejo (LD50 = 820 mg/Kg, administración i.p. como suspensión en "Tween" en una sola inyección). Los riñones fueron extraídos 192 horas después de administrar a las ratas 410 mg/Kg ($\frac{1}{2}$ de la LD50) del complejo mencionado —véase la Figura II—.

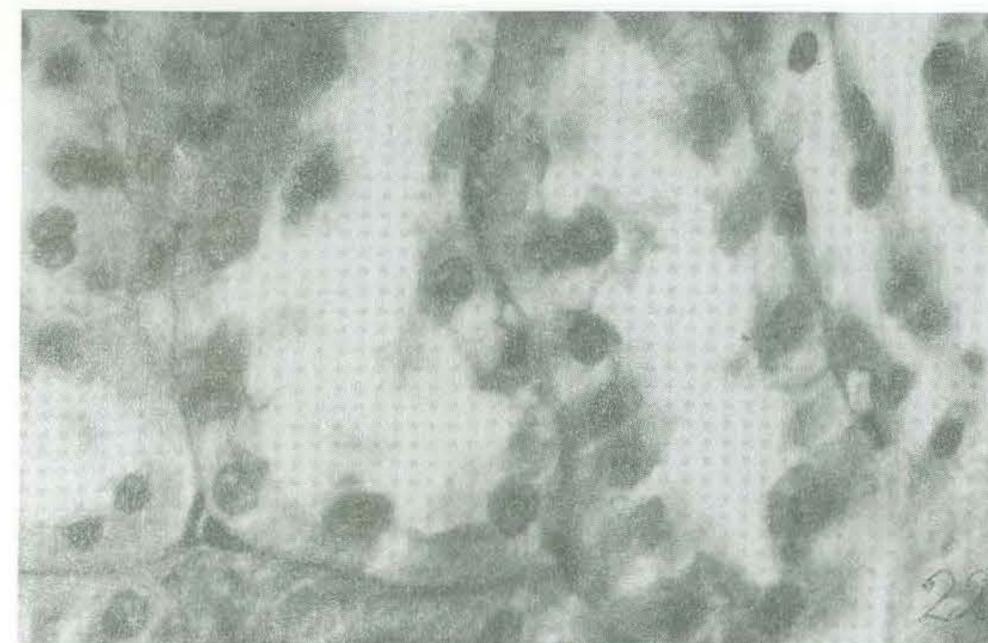


Figura 2.— (comprende las microfotografías 22-27).

Microscopía óptica de los cortes semifinos de los riñones (a las 192 horas) de las ratas que recibieron $\frac{1}{2}$ LD50 (LD50 = 820 mg/Kg) del complejo [Rh^I (COT) (L)] donde L = morfolinditiocarbamato (única inyección).

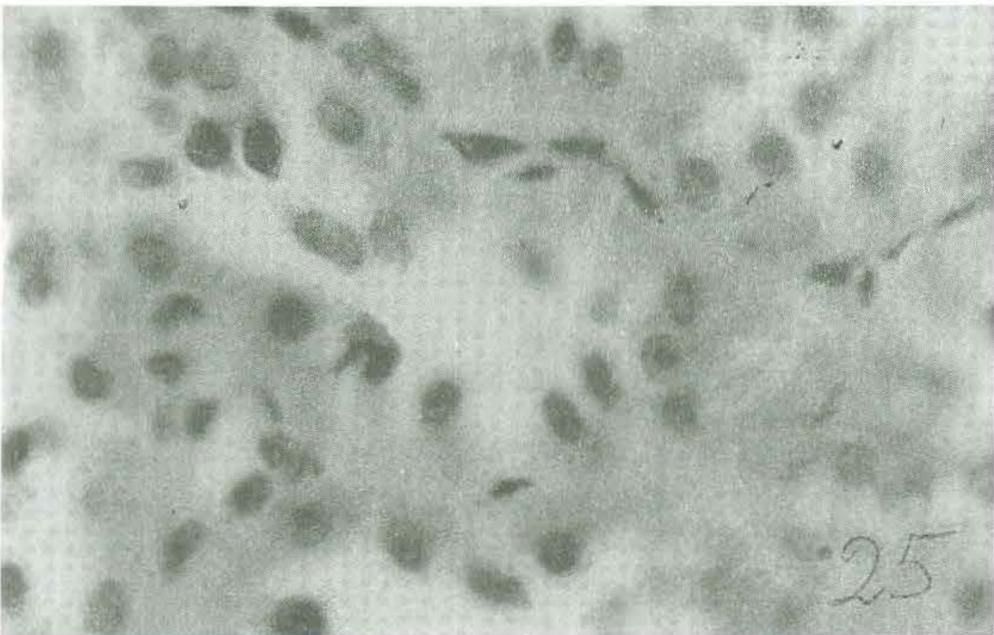


Figura 2.- (continuación).

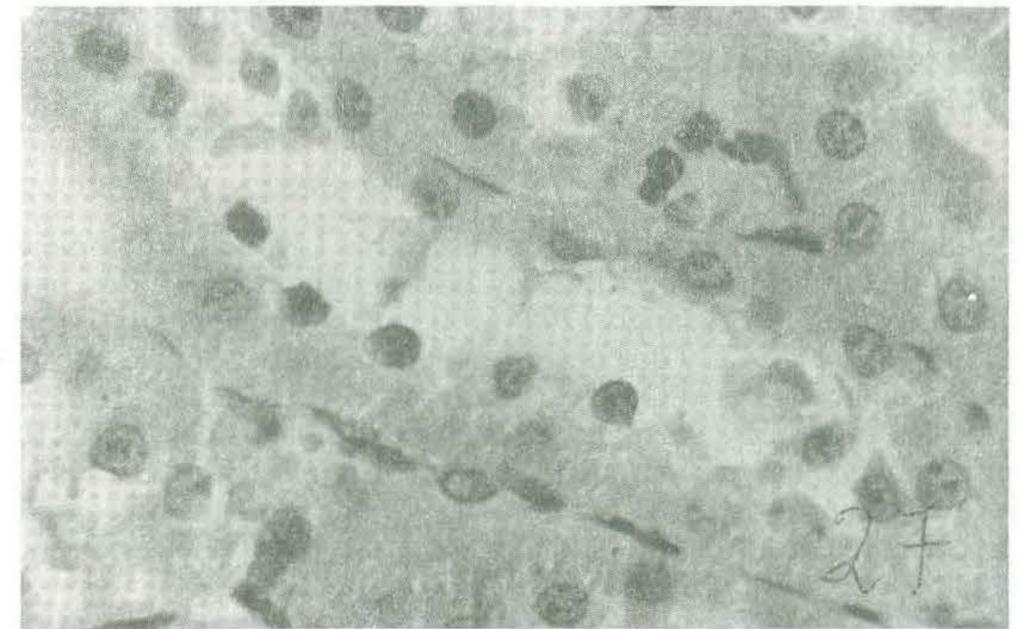
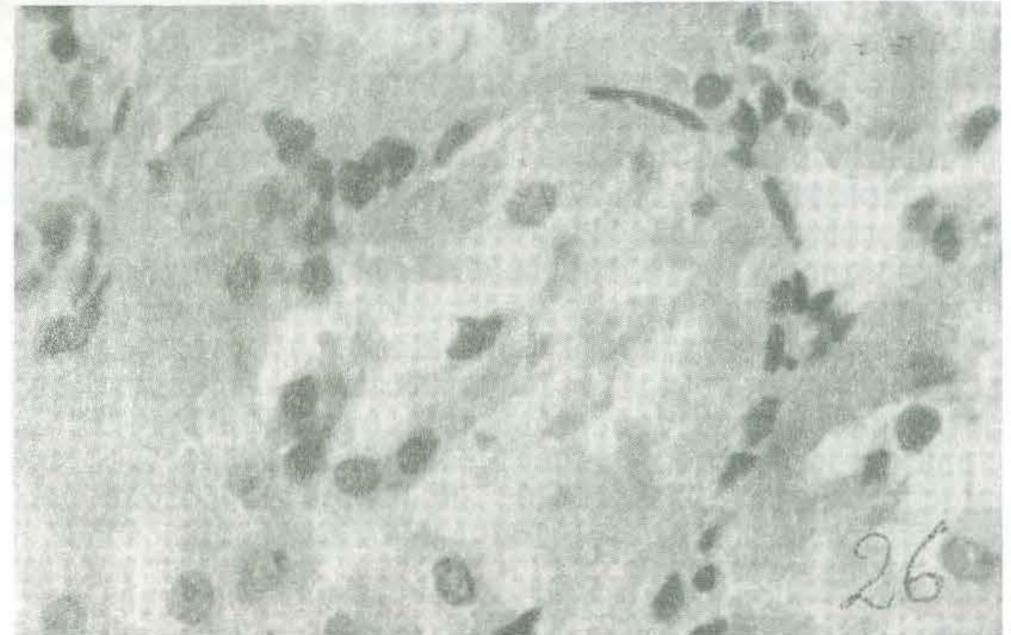


Figura 2.- (continuación).

II. RESULTADOS y DISCUSION

Habiendo establecido mediante los resultados de los análisis químicos que, las estructuras propuestas $[\text{Rh}^{\text{I}}(\text{COT})(\text{L})]^\circ$ e $[\text{Ir}^{\text{I}}(\text{COT})(\text{L})]^\circ$ parecen correctas, es de gran interés dilucidar a través de los datos espectros I.R. de los complejos de las mencionadas estructuras propuestas (que apuntan hacia unos modelos neutros, de simetría cuadrado-plana donde el ligando (COT)-ciclooctatetraeno actúa como ligando bidentado cediendo al Rh(I) o al Ir(I) densidad π electrónica desde sus dobles enlaces y por otro lado los ligandos (L) actúan como ligandos monoaniónicos bidentados). Efectivamente, se asigna una actuación bidentada de los ligandos monoaniónicos (L^-)—ditiocarbamatos y xantatos— hacia los cationes Rh(I) e Ir(I), ya que los espectros I.R. de estos nuevos complejos son muy parecidos a los espectros I.R. de los complejos—también estudiados por nosotros— (es decir $[\text{Rh}^{\text{I}}(\text{COT})(\text{L})] (4)$). En efecto hemos identificado una única banda de tensión ($\nu \text{C-S}$) situada en el rango de frecuencias $1100-1050 \text{ cm}^{-1}$ de intensidad moderada para todos los nuevos complejos, lo que explicaría la coordinación de los ligandos (L^-)

en las formas resonantes ${}^2\text{RN}-\text{C} \begin{array}{l} \diagup \text{S} \\ \diagdown \text{S} \end{array} (-)$ y $\text{R}-\text{O}-\text{C} \begin{array}{l} \diagup \text{S} \\ \diagdown \text{S} \end{array} (-)$ que implican desloca-

lización π electrónica sobre las “pinzas” CS_2^- de los ligandos. En el caso en el cual los ditiocarbamatos y xantatos hubieran coordinado alrededor de los iones Rh(I) e Ir(I) como ligandos que no poseen deslocalización π electrónica sobre sus “pinzas” CS_2 , es decir en las formas resonantes:



entonces hubieramos encontrado en los espectros I.R. de los complejos [conforme a lo descrito por Fabretti (22) y por Craciunescu (4)] dos bandas de mediana intensidad (en el rango $1200-1100 \text{ cm}^{-1}$) asignadas a las vibraciones de tensión $\nu \text{C=S}$ y $\nu \text{C-S}$, y que corresponderían como es lógico a los órdenes distintos de enlace (C=S y C-S) existentes en el caso de las arriba mencionadas formas canónicas. Además, los nuevos complejos del Ir(I) y Rh(I) no presentan bandas de tensión $\nu \text{Rh-Cl}$ e $\nu \text{Ir-Cl}$ (existentes en los dímeros $[\text{Rh}_2^{\text{I}}(\text{COT})_4(\text{CL}_2)]$ e $[\text{Ir}_2^{\text{I}}(\text{COT})_4(\text{Cl})_2]$, ya que los nuevos complejos no contienen enlaces Ir-Cl o Rh-Cl (rango de frecuencias $300-350 \text{ cm}^{-1}$ para las vibraciones de tensión $\nu \text{Ir-Cl}$ y $\nu \text{Rh-Cl}$).

Todos los complejos del Rh(I) e Ir(I) descritos en este trabajo, también poseen varias bandas intensas de absorción I.R. (rango $1600-2000 \text{ cm}^{-1}$, y $500-551 \text{ cm}^{-1}$) asignadas a las vibraciones de tensión y/o deformación de los enlaces C=C y C-H pertenecientes al ligando (COT)—ciclooctatetraeno— (20).

Las vibraciones de tensión $\nu \text{Rh-S}$ e $\nu \text{Ir-S}$, aparecen como bandas I.R. únicas de moderada intensidad en el rango de las frecuencias $400-450 \text{ cm}^{-1}$:

se trata de una única banda, que no aparece en el espectro I.R. de los ligandos puros (L)—en forma de sales potásicas $\text{L}^- \text{K}^+$, ni en el espectro I.R. del COT (ciclooctatetraeno).

No hemos podido establecer un claro paralelismo entre los desplazamientos de las vibraciones de tensión ($\nu \text{C-S}$) y/o $\nu \text{Rh-S}$, $\nu \text{Ir-S}$ (en los complejos) respecto a las vibraciones $\nu \text{C-S}$ en los ligandos puros ($\text{L}^- \text{K}^+$), y por otro lado respecto a los valores de las cargas π electrónicas localizadas sobre las “pinzas” $-\text{CS}_2^-$ de los ligandos (véase la Figura 1) y calculados según el método O.M. Huckel, como lo habíamos hecho en el caso de la serie de complejos análogos $[\text{Rh}^{\text{I}}(\text{COT})_2(\text{L})] (4)$, también estudiado por nosotros.

Por tanto, asignamos las estructuras propuestas de los nuevos complejos organometálicos, neutros $[\text{Rh}^{\text{I}}(\text{COT})(\text{L})]^\circ$ e $[\text{Ir}^{\text{I}}(\text{COT})(\text{L})]^\circ$ una estructura cuadrado plana [como para la mayoría de los complejos organometálicos del Rh(I) y del Ir(I)], donde los ligandos (L) actúan como ligandos bidentados y monoaniónicos, en la forma resonante que implica deslocalización π electrónica sobre las “pinzas” CS_2^- de estos ditiocarbamatos y xantatos. Obviamente una conformación absoluta de la veracidad de estas estructuras propuestas, se obtendrá únicamente a través de las difractogramas de rayos X de estos complejos neutros del Rh(I) y del Ir(I). Estudios estructurales que serán publicados próximamente.

Las cargas π electrónicas localizadas sobre las “pinzas” CS_2^- de los ligandos (L)—véase Figura 1— son más elevadas para todos los ditiocarbamatos (desde 1,7936 para la morfolinditiocarbamato hasta 1,7759 para la iso-propilditiocarbamato), respecto a las cargas π electrónicas de los xantatos (desde 1,7396 para el ciclopentil xantato hasta 1,7313 para el etilxantato). Sin embargo, no es posible relacionar la mayor interacción entre las pinzas CS_2^- de los ligandos y los cationes Rh(I) e Ir(I), que se correspondería con los valores más elevados de la carga π electrónicas calculadas por el método O.M. Huckel para las “pinzas” CS_2^- , con los desplazamientos de las bandas de tensión $\nu \text{C-S}$ o bien $\nu \text{Ir-S}$, $\nu \text{Rh-S}$, hacia menores frecuencias I.R.

Respecto a las actividades antitumorales “in vivo” (véase la Tabla I), podríamos poner de relieve las siguientes características generales relacionadas con el potencial antitumoral “in vivo” de los nuevos complejos del Rh(I) e Ir(I):

a) Los complejos del Rh(I) son más activos que los complejos del Ir(I) frente a las tres líneas de tumores ensayados.

b) Ambas clases de complejos, es decir $[\text{Rh}^{\text{I}}(\text{COT})(\text{L})]^\circ$ e $[\text{Ir}^{\text{I}}(\text{COT})(\text{L})]^\circ$ son más activos frente a los tumores ascíticos de Landschitz que frente a los tumores ascíticos de Ehrlich y, por último, frente a los nuevos tumores P388.

c) Para los complejos del Rh(I), las mayores actividades anticancerosas “in vivo” corresponden a los casos donde L = derivado de ditiocarbamato,

siendo los derivados de xantatos los menos activos. El complejo de Rh(I) que induce (en las tres líneas de tumores) los mayores valores T/C %, es el complejo $[Rh^I(COT)(L)]$, es decir aquel complejo originado por el ligando (L) que posee la más elevada carga π electrónica sobre la "pinza" CS_2 de toda la serie de ditiocarbamatos y xantatos (es decir una carga de 1,7936, véase la Figura 1).

d) También en el caso de los complejos del Ir(I), el complejo más activo de la serie $[Ir^I(COT)(L)]$ es aquel donde también $L =$ morfólin ditiocarbamato. En general, los complejos donde los ligandos (L) son derivados de ditiocarbamatos presentan mayores efectos antitumorales respecto a los complejos de Ir(I) donde los ligandos L son derivados de xantatos.

e) No existe una relación bien definida que nos permite discriminar entre la disminución de las actividades antitumorales de los complejos del Ir(I) y del Rh(I) con ligandos xantatos, y por otra parte la secuencia en la que disminuyen las cargas π electrónicas localizadas sobre las "pinzas" CD_2 de los xantatos (véase Figura 1).

f) Ambas series de complejos del Ir(I) y del Rh(I) son menos activas (frente a las 3 líneas de tumores ensayados) respecto al mecanismo clásico de referencia "Neoplatin" $[cis-Pt(NH_3)_2(Cl)_1]$.

Si bien los resultados de los ensayos antitumorales (véase la Tabla I) indican que los complejos del Rh(I) y del Ir(I) —por este orden— se comportan como agentes anticancerosos suaves o débiles, conviene mencionar que se trata de complejos poco solubles en el agua, que poseen elevados valores LD50 [rango 650–900 mg/Kg para los complejos del Rh(I) y rango 800–1200 mg/Kg para los complejos del Ir(I) —administración i.p. como suspensión en "Tween"]. Por lo tanto, se trata de complejos mucho menos tóxicos que el "Neoplatin" cuyo valor LD50 = 13 mg/Kg. *En lo que concierne a las actividades antitripanosómicas "in vivo" desplegadas por los 22 nuevos complejos del Ir(I) y del Rh(I), —véase la Tabla II—, podríamos sacar las siguientes observaciones:*

- 1) Existe un claro paralelismo entre las actividades antitripanosómicas (frente a las tres líneas de infección parasitaria) para los complejos del Rh(I) y del Ir(I), y por otro lado sus actividades antitumorales (sacadas de la Tabla I). Cuanto más activo es un complejo de Rh(I) o de Ir(I) —por este orden— como agente antitumoral mayor efecto antitripanosómico "in vivo" se observa.
- 2) Los complejos del Rh(I) y del Ir(I) son más activos frente a la línea de infección parasitaria con *T. evansi* (venezueliense); su actividad es muy débil frente a las líneas parasitarias *T. evansi* India y *T. congolense*.

- 3) Los complejos donde $L =$ ditiocarbamatos son más activos que los complejos donde $L =$ derivados de xantato.
- 4) El complejo que mayor actividad antitripanosómica posee es el complejo $[Rh^I(COT)(L)]$, donde $L =$ morfólin ditiocarbamato; es decir aquel complejo donde el ligando L posee la mayor densidad de la "pinza" CS_2 , de toda la serie de ligandos $L =$ (véase Figura 1).

Obviamente, se podría pensar que una mayor carga π electrónica sobre las "pinzas" CD_2 de los ligando L, llevaría a una mayor interacción entre los iones Rh(I) e Ir(I) con los ligandos L, a un mayor fortalecimiento de los enlaces Rh-S e Ir-S, y por ende a una mayor "estabilidad" de las estructuras neutras $[Rh^I(COT)(L)]$ e $[Ir^I(COT)(L)]$.

Conviene también mencionar que las actividades antitumorales así como las actividades antitripanosómicas "in vivo" de las nuevas series $[Rh^I(COT)(L)]$ e $[Ir^I(COT)(L)]$ son inferiores a las actividades duales (antitumorales y antitripanosómicas "in vivo") desplegadas por los complejos neutros del Rh(I) de estructura general $[Rh^I(CO)_2(L)]$ donde $L =$ derivados de ditiocarbamatos y/o derivados de xantatos, estudiados recientemente por Craciunescu y colaboradores (4). Quizás este hecho estaría relacionado con la existencia de unos enlaces más fuertes entre el Rh(I) y las moléculas CO, que entre el Rh(I) y las moléculas del ligando (COT) que es un ligando π menos efectivo que el CO.

El potencial nefrotóxico, hepatotóxico y hematotóxico, apreciado para todos los nuevos complejos del Rh(I) y del Ir(I) —véase la Tabla III— a las 193 horas después de administrar a las ratas $\frac{1}{2}$ de la LD50 en una sola inyección, parece bastante bajo. Desde luego se producen incrementos moderados de los contenidos % mg creatinina y % mg urea, en la sangre de las ratas (10–20% de incremento frente a los valores de los "controles"), lo que apunta hacia el hecho de que la toxicidad limitante de estos complejos del Rh(I) y del Ir(I) es la toxicidad renal.

Los incrementos que se producen en los valores enzimáticos "SGOT" y "GOT", medidos también en la sangre de las ratas, respecto a los "controles" apuntan hacia unas elevaciones del 5–15% (o inferiores) respecto a los "Controles", lo que indica claramente falta de potencial hepatotóxico. Por ende, los valores de los cocientes L/N (Linfocitos/Neutrófilos) apenas descienden respecto a los "Controles" ($L/N = 6,2$); este descenso no alcanza jamás valores del orden de 10–20%, lo que indica falta de potencial hematotóxico para los nuevos complejos del Rh(I) y del Ir(I).

El deficiente desenvolvimiento de la función renal, ha sido comprobado también mediante estudios de microscopía óptica (x 240) de los cortes semifinos de los riñones (192 horas) de las ratas que recibieron $\frac{1}{2}$ de la LD50 (LD50 = 820 mg/Kg) del complejo más activo, es decir $[Rh^I(COT)(L)]$ donde $L =$ morfólin ditiocarbamato (véase la Figura 2, que comprende las microfotografías 22, 23, 24, 25, 26 y 27).

En la Figura 2 (que comprende las fotografías 22, 23, 24, 25, 26 y 27) se aprecian ciertas lesiones de los túbulos proximales: las células epiteliales de los túbulos proximales presentan acúmulos ocasionales en situación intracitoplasmáticas (foto 22 de las Figura 2).

En la microfotografía 23 de la Figura 2, se aprecia que el ribete en cepillo presenta lesiones con pérdida parcial del mismo en algunos túbulos.

Sin embargo en algunos túbulos la degeneración y desprendimiento de células epiteliales tubulares proximales es más intensa (véase la microfotografías 24, 25, 26, 27 pertenecientes a la Figura 2).

Los resultados histopatológicos de los cortes semifinos de los riñones (x 240), parecen por lo tanto confirmar los resultados de las medidas de los parámetros bioquímicos (en la sangre de las ratas), que apuntan hacia un mal funcionamiento renal (situación catalogable de "toxicidad renal moderada" -véase la Tabla III-), para administración de $\frac{1}{2}$ LD50 del complejo $[Rh^I(COT)(L)]$ donde L = morfolinditiocarbamato.

Podríamos interpretar los efectos nefrotóxicos desplegados por estos complejos organometálicos $[Rh^I(COT)(L)]$ pensando en el hecho de que podrían tener mecanismos de alteración del metabolismo y función renal, parecidos a los que presenta el "Neoplatin" ($cis-Pt(NH_3)_2(Cl)_2$), ya que tanto el $cis-Pt^{II}(NH_3)_2(Cl)_2$ como estos nuevos complejos organometálicos del Rh(I) y del Ir(I) son también complejos neutros, de estructura cuadrado plana. Podrán por tanto actuar como agentes antitumorales y antitripanosómicos mediante un mecanismo de acción selectiva sobre el ADN tumoral (o del Kinetoplasto de los tripanosomas), es decir teniendo una actuación alquilante (intercalante sobre los pares G-C del ADN).

Proseguiremos en estos Laboratorios el estudio de las actividades anti-parasitarias de los complejos $[Rh^I(COT)(L)]$ e $[Ir^I(COT)(L)]$ donde L = morfolinditiocarbamato, sobre líneas de infección parasitaria muy patógenas para el ser humano (*T. rhodesiense*, *T. cruzi*) y/o otras líneas de tumores leucémicos (L1210), ya que dichos complejos son al parecer, poco tóxicos a nivel general, si los comparamos con los complejos del Pt(II) de referencia como agentes anticancerosos ("Neoplatin" y "Carboplatin").

III. AGRADECIMIENTOS

El Prof. D.G. Craciunescu, agradece a las Compañías "Johnson Matthey Ltd" Inglaterra, y "Platinum Rustenburg Mines" (Sur Africa) por las sales de los metales nobles, recibidas gratuitamente.

BIBLIOGRAFIA

- (1) FARRELL, N. y col. (1984) *J. Biochem. Pharm.* 133:961-971.
- (2) FARRELL, N. col. (1983). Comunicación al Congreso "Platinum complexes in Cancer Chemotherapy" (Vermont, USA, Junio 1983).
- (3) FARRELL, N. (1984) Comunicación privada al Prof. Dr. D.G. Craciunescu.

- (4) CRACIUNESCU, D.G. y col. (1988) *An. Real Acad. Farm.* 54:44-466.
- (5) CRACIUNESCU, D.G. y col. (1988). Archivos de Malariología (Venezuela), 23,12-16.
- (6) CRACIUNESCU, D.G. y col. (1986). *An. Real Acad. Farm.* 51:33-52.
- (7) CRACIUNESCU, D.G. y col. (1986) *An. Real Acad. Farm.* 52:45-46.
- (8) CRACIUNESCU, D.G. y col. (1989) *An. Real Acad. Farm.* 55:213-236.
- (9) OSUNA, A. y col. (1986) *Drug Reseach.* 36:13-16.
- (10) OSUNA, A. y col. (1986) *Chem. Biol. Interactions*, 59:99-111.
- (11) RUIZ PEREZ, L.M. y col. (1987) *Tropical Med. Parasitology* 38:45-48.
- (12) RUIZ PEREZ, L.M. y col. (1987) *J. Parasitology* 73 (2) 272-277.
- (13) CRACIUNESCU D.G. y col. (1985- *Anal. Real Acad. Farm.* 51:653-658.
- (14) DAVA, G. y col. (1985) *Anticancer Res.* 5:249-252.
- (15) SAVA, G. y col. (1983) *Chem. Biol. Interactions* 45:1-6.
- (16) CRACIUNESCU, D.G. y col. (1987) Comunicación al Congreso "Ruthenium acid and others Pt complexes in chemotherapy". (Trieste, Italia, Julio, 1987).
- (17) CRACIUNESCU, D.G. y col. (1989) *Anticancer Research* 9:781-786.
- (18) a) CRACIUNESCU, D.G. y col. (1989) *Tropical Med. Parasitology* (en imprenta).
b- CRACIUNESCU, D. y col. (1985) *Biol. Trace. Elements Research* 8:251-256.
- (19) COTTON, A. y WILKINSON, G. (1964) *Química Inorgánica Moderna* Edit. J. Wilwy, México).
- (20) COCEVAR, G. y col. (1972) *J. Organometallic Chem*, 35:389-395.
- (21) STRATWIESSER, A. (1964) "Molecular Orbital Theory for Organic Chemists" (Edit. J. Wiley, New York).
- (22) FABRETTI, C. col. (1984) *Inorganica Chim. Acta.* 86:127-131.

Recibido: 7 Febrero 1990.