

Complessi a base metallica per la diagnosi e la terapia oncologica

*Progettazione, sintesi e caratterizzazione di sistemi molecolari inorganici
a base metallica per applicazioni in*

Terapia oncologica → Rame, Argento

Marina Porchia
Francesco Tisato

**Radiodiagnostica
e teragnostica** → Renio, Tecnezio

Cristina Bolzati
Fiorenzo Refosco
Nicola Salvarese

Sommario

- **Terapia vs Radiodiagnostica**
- **Farmaci per la Terapia Oncologica**
- **Radiofarmaci**

L'attività principale consiste nella progettazione e sintesi di nuovi composti inorganici

- Sintesi di complessi di coordinazione con determinate caratteristiche chimico-fisiche (dimensioni, carica, lipofilità, solubilità...), stabili all'aria e preferibilmente solubili in ambiente acquoso
- Sintesi di alcune classi di leganti ad es. **fosfine**
- Caratterizzazione con tecniche tradizionali: **NMR** IR X-ray massa etc.
- Due principali strategie di sintesi: composti «essenziali» o target specifici
- Ricerche multidisciplinari: bisogna avere un feedback da prove biologiche
- Difficoltà a trovare finanziamenti

COMPETENZE e ATTIVITA' COMUNI
TERAPIA e RADIODIAGNOSTICA

Radiodiagnostica

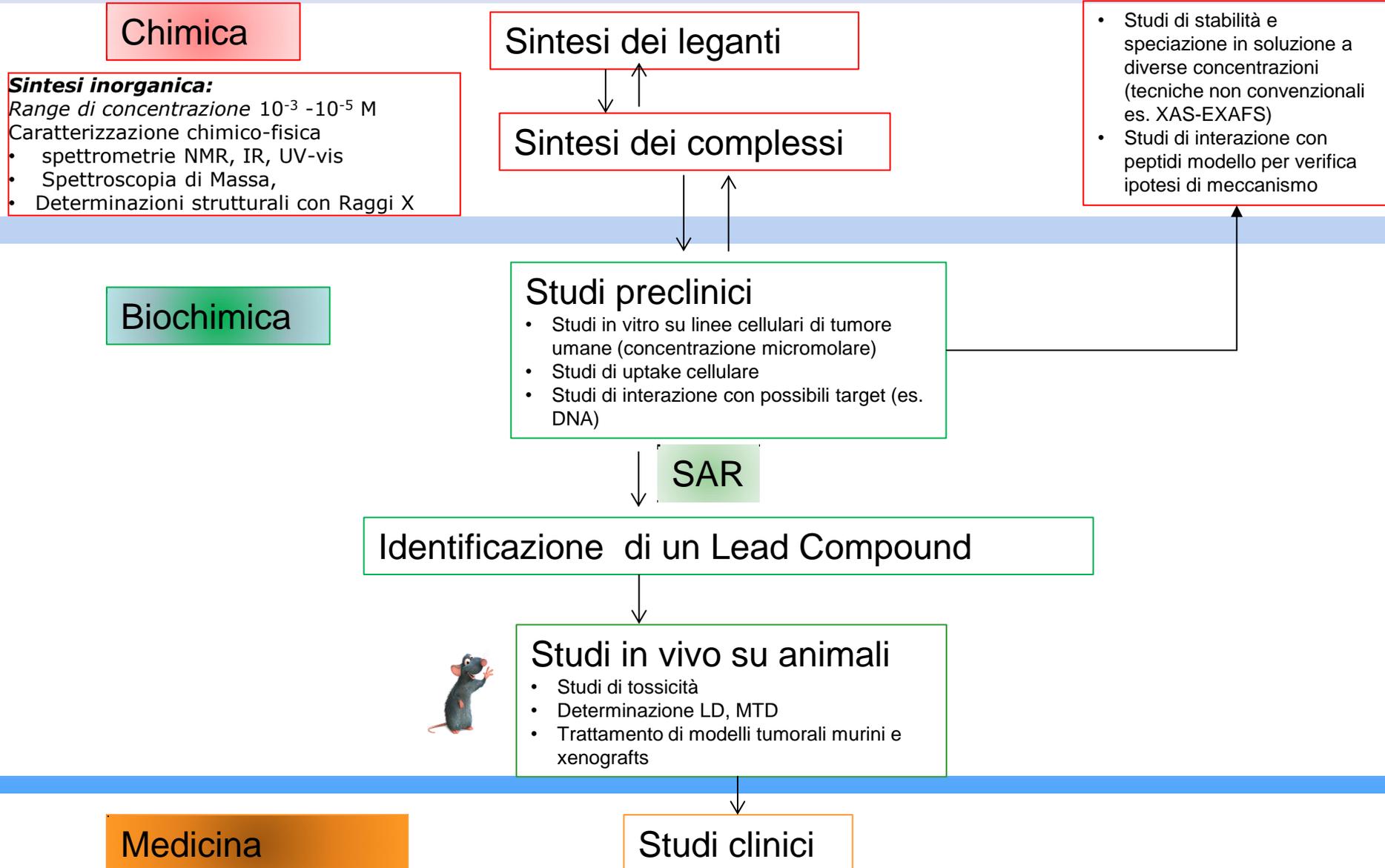
- Utilizzo di radioisotopi (sia a livello macroscopico Tc-99 che a livello di nanomolare Tc-99m): **necessità di lavorare in zone controllate**
- Sintesi di complessi a concentrazioni nanomolari
- Uso di tecniche di tecniche cromatografiche (HPLC) con rivelatori radiometrici
- Diverse caratteristiche dei complessi metallici: elevata stabilità termodinamica e cinetica per i diagnostici, possibilità di avere anche composti cineticamente labili per la terapia

COMPETENZE e ATTIVITA' DIVERSE
TERAPIA e RADIODIAGNOSTICA

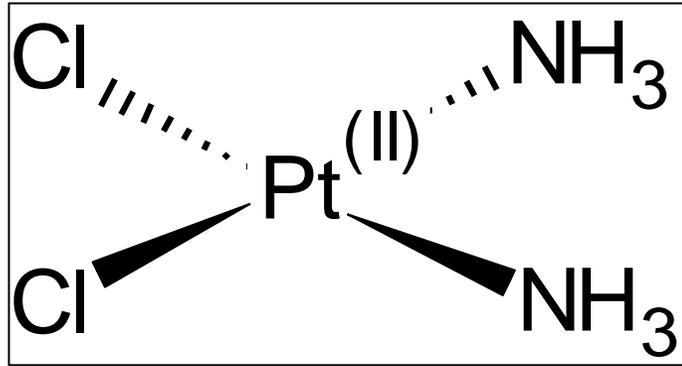
Complessi a base metallica per la diagnosi e la terapia oncologica

FARMACI PER LA TERAPIA ONCOLOGICA

Approccio multidisciplinare alla sintesi di nuovi farmaci



Perché farmaci a base metallica



Il cis-diamminodichloro platino(II) (cis-platino), dopo 35 anni dalla sua approvazione come chemioterapico è ancora tra le molecole più utilizzate soprattutto nel cancro ovarico, testicolare, polmonare e della vescica. In particolare nel trattamento del cancro testicolare si raggiungono punte del 90% di cura efficace.

Principali svantaggi:

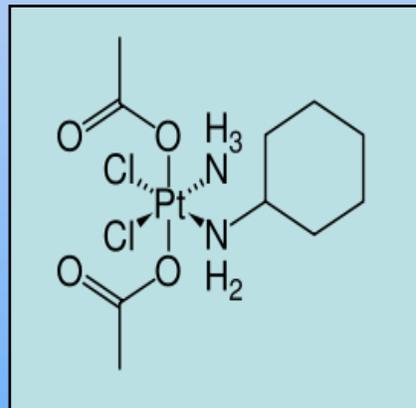
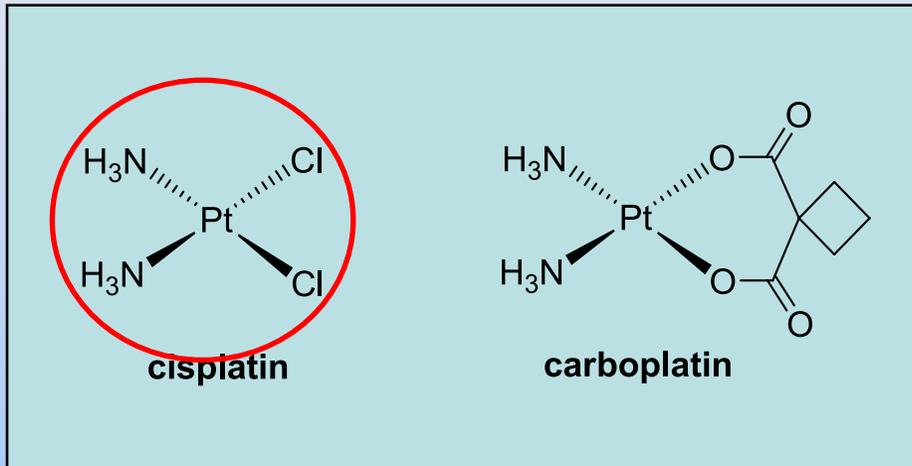
- severi effetti collaterali dose-dipendenti (soprattutto nefrotossicità e neurotossicità)
- fenomeni di resistenza intrinseca o acquisita al farmaco
- non adatti all'assunzione orale



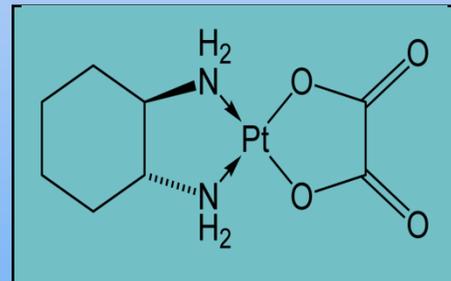
Ricerca di nuovi farmaci antitumorali a base metallica che presentino:

- Bassa tossicità
- Abilità a superare fenomeni di resistenza
- Elevata attività

Complessi metallici come agenti antitumorali



satraplatin



oxaliplatin

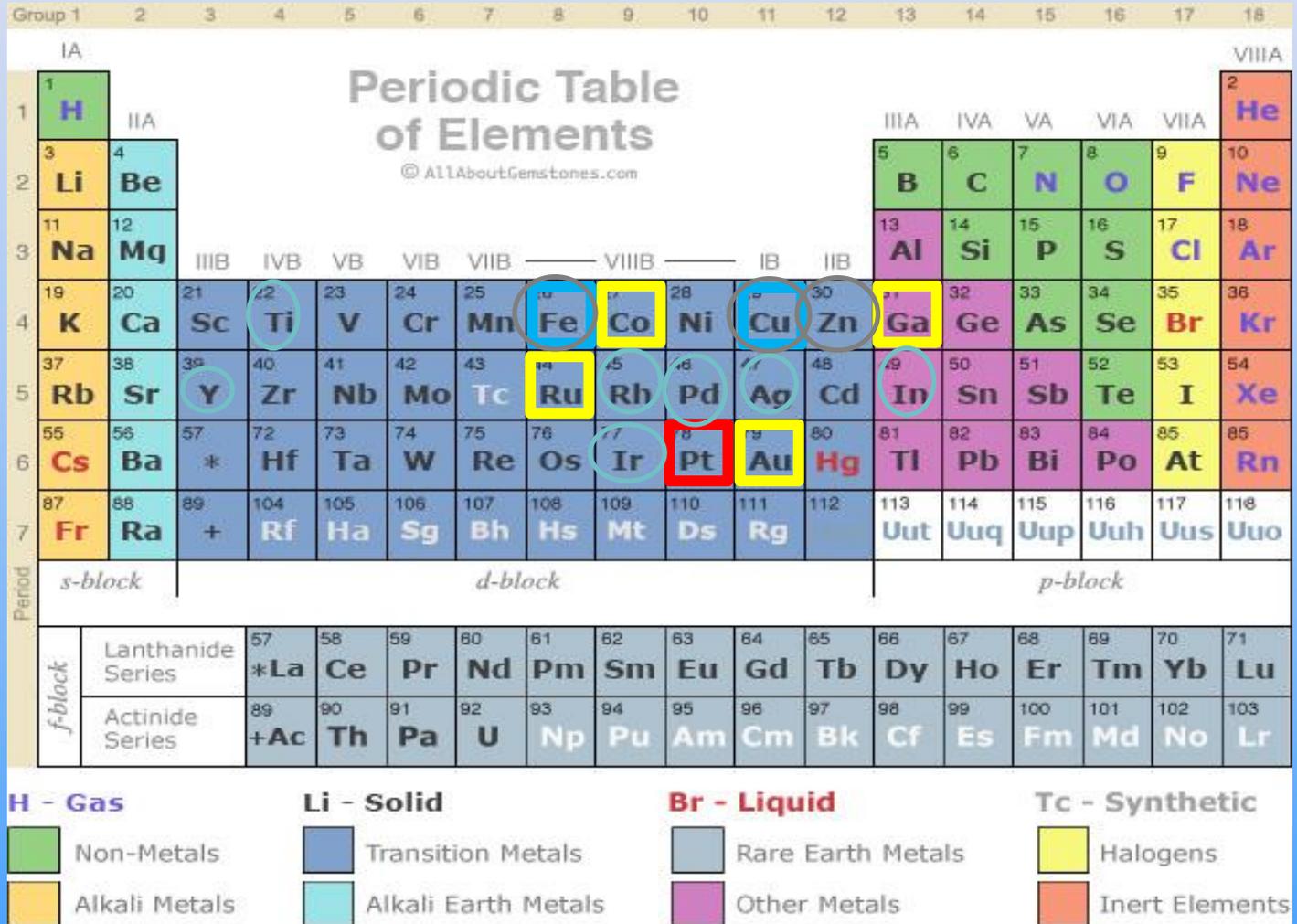
La ricerca di nuove molecole contenenti un metallo (metal-based drugs) biologicamente attive e in grado di superare gli svantaggi del cis-platino, ha portato negli ultimi 30 anni alla sintesi di **migliaia** di nuovi composti a base di Ti, Y, Ru, Rh, Ir, Pd, Pt, Cu, Ag, Au, Ga o In, ma finora soltanto due (**carboplatino** e **ossaliplatino**) sono entrati nell'uso clinico.

Il mercato mondiale degli antitumorali a base di platino, utilizzati nei protocolli chemioterapici del trattamento di vari tipi di tumore, è valutato in alcuni miliardi di dollari.

Metalli di transizione utilizzati nella sintesi di metal-based drugs

Ferro
Zinco
Rame
 Molibdeno
 Manganese
 Cobalto

 Sodio
 Magnesio
 Calcio
 Selenio

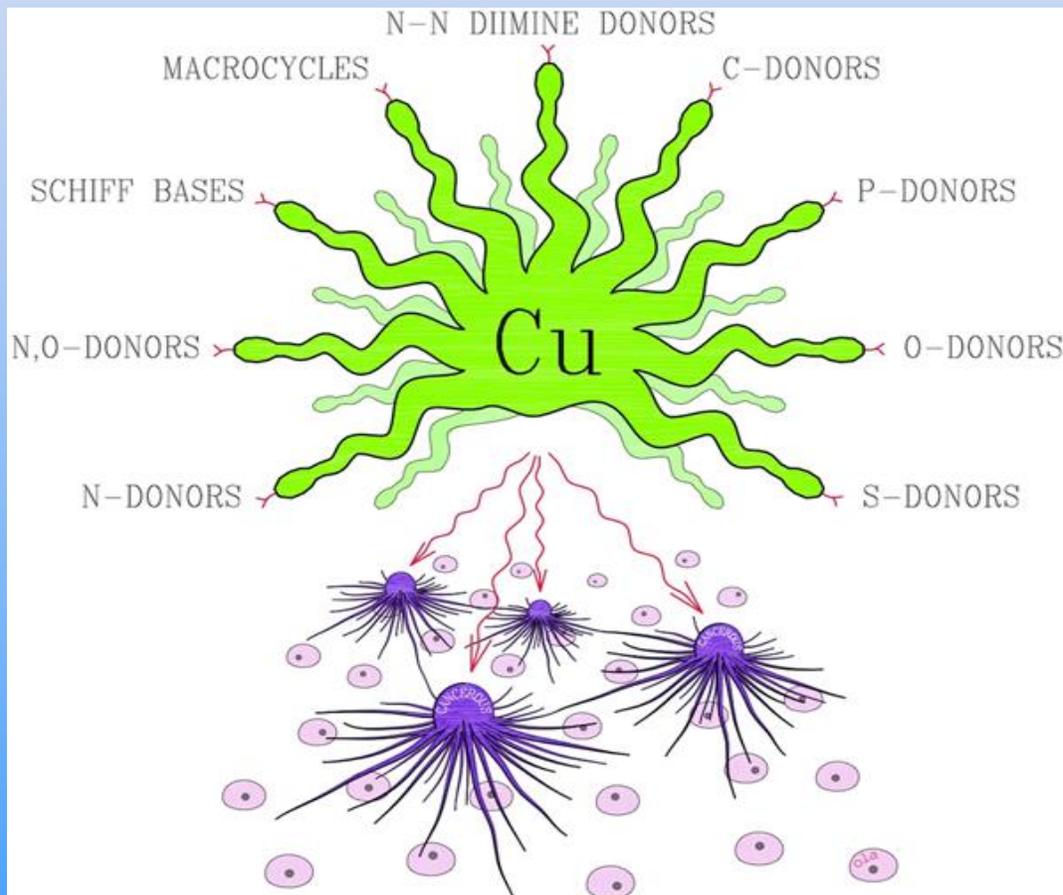


Perché Rame?

- Il rame è un elemento endogeno, essenziale per moltissimi processi red-ox ed è presente in enzimi e proteine
- La sua concentrazione è determinata da un'omeostasi specifica
- Il rame ha dei trasportatori specifici per entrare nelle cellule
- Composti a base di rame agiscono con meccanismi diversi da quelli utilizzati da cis-Pt (DNA targeting) e quindi sono in grado di superare fenomeni di resistenza.

Che tipo di composti di rame?

Sono stati preparati e testati in vitro **migliaia** di composti di rame in diversi stati di ossidazione e con innumerevoli tipi di legante

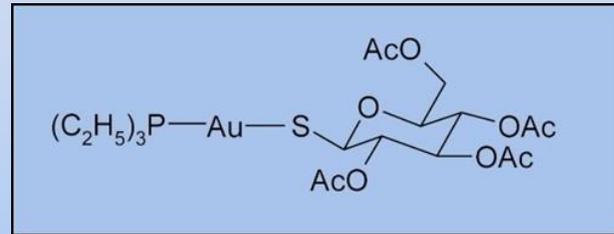


- **Stato di ossidazione:** poiché è stato dimostrato che Cu(II) viene ridotto a Cu(I) prima di essere internalizzato nella cellula, abbiamo deciso di studiare complessi di **Cu(I)**.
- **Leganti:** per la sua natura “soft”, Cu(I) preferisce donatori “soft” come P, N sp^2 (pirazoli, piridine etc.) o S (tioeteri). Sulla base anche della nostra esperienza abbiamo deciso di utilizzare principalmente come leganti **fosfine** terziarie.

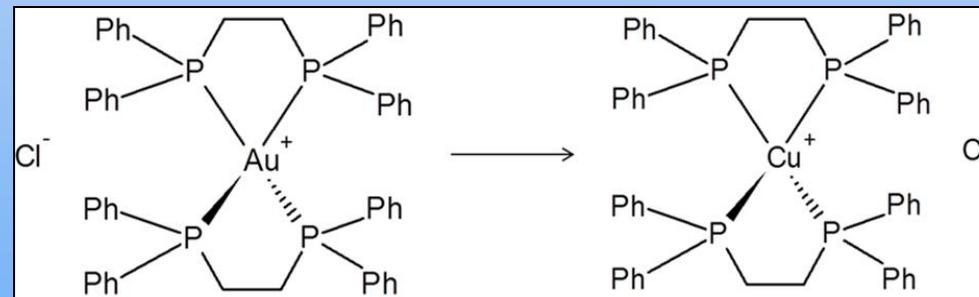
Complessi fosfinici di metalli del gruppo 11

Complessi fosfinici di metalli del gruppo 11 sono stati proposti come agenti antitumorali alternativi al cis-Pt.

Auranofin

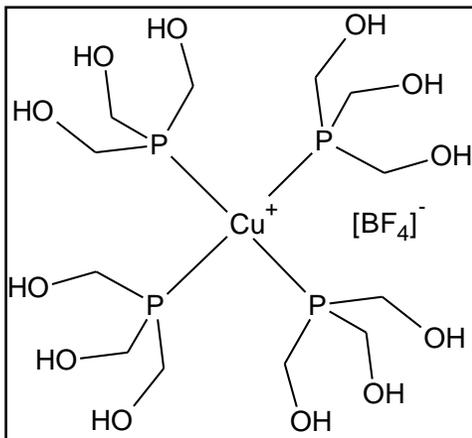


- *Complessi difosfinici lipofilici di Au sono attivi e anche gli analoghi di rame però altamente tossici.*

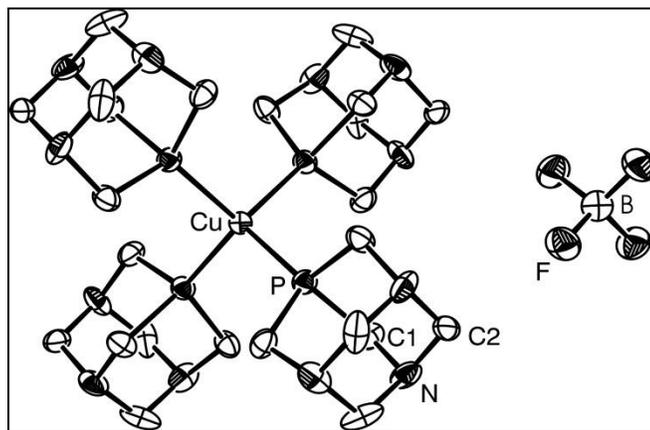


Uso di fosfine **monodentate idrosolubili** in modo da ottenere dei complessi tetraedrici di Cu(I) del tipo CuP_4

Composti omolettici di Cu(I) del tipo $[\text{CuP}_4]^+$



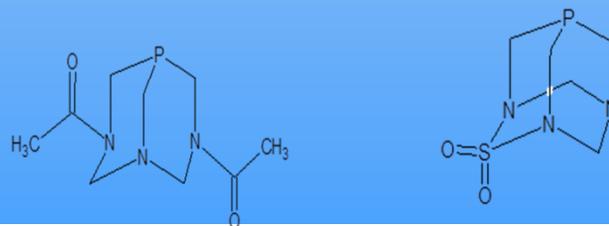
$[\text{Cu}(\text{thp})_4]^+$



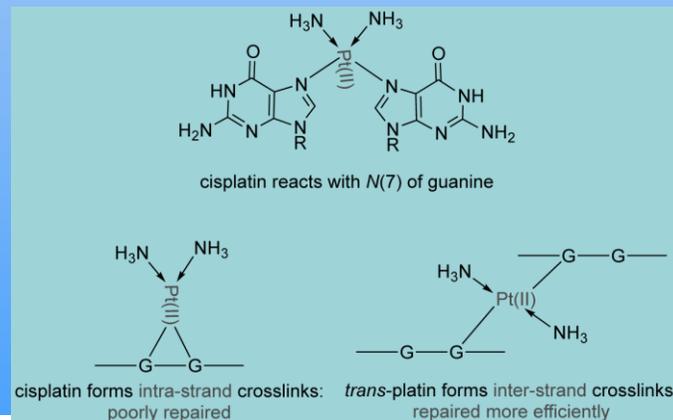
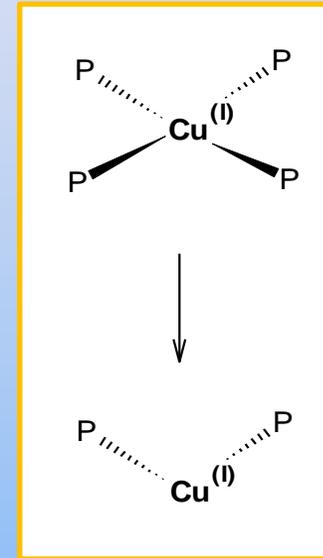
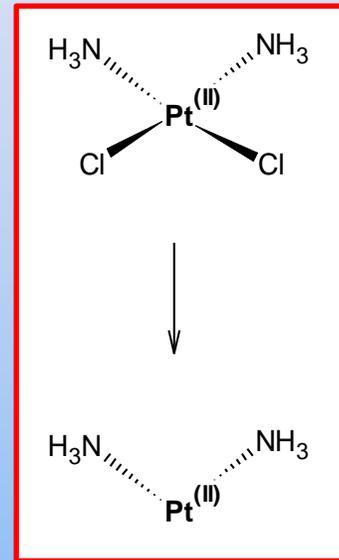
$[\text{Cu}(\text{PTA})_4]^+$

- Solubili in acqua
- Stabili all'ossidazione

Altre fosfine utilizzate:



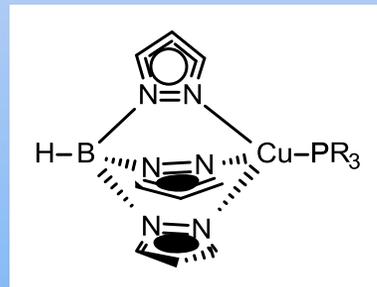
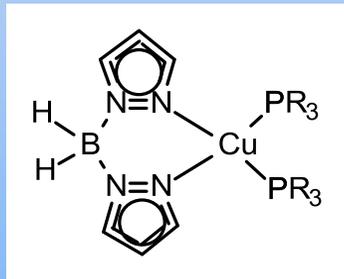
Formazione di specie coordinativamente insature



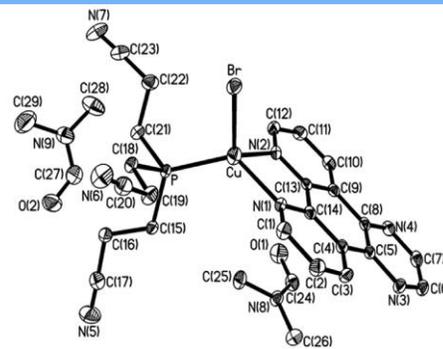
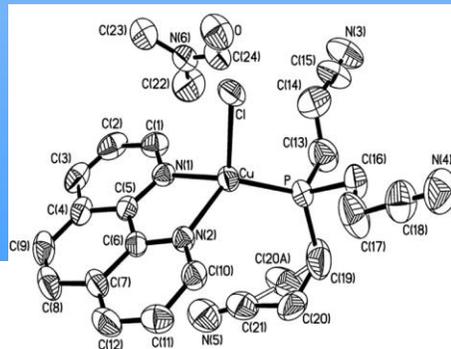
P7. Complessi fosfinici di rame(I) come potenziali agenti antitumorali.
M.Porchia, F. Tisato

Diversa strategia di sintesi: composti eterolettici

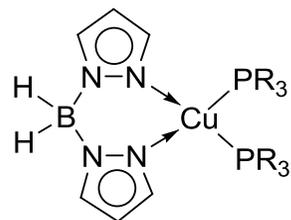
- L'attività di un complesso è funzione di alcune caratteristiche: carica, lipofilicità, stabilità, dimensione.
- La natura del legante è determinante nel modulare queste caratteristiche: l'uso di due leganti diversi aumenta la possibilità di «tuning» delle caratteristiche chimico-fisiche del complesso.
- **[Cu(HBpz₃)P] [Cu(H₂Bpz₂)P₂]** : complessi contenenti un legante bi o tridentato e una o due fosfine a completare la sfera di coordinazione



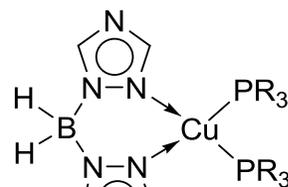
- **[Cu(N-N)(P)X] [Cu(N-N)(P)₂]X** : complessi contenenti una diimina (lipofilica o idrofilica) e una o due fosfine



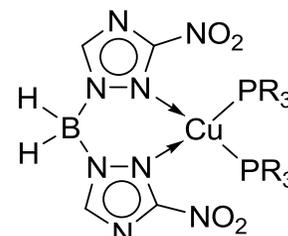
Complessi eterolettici di Cu(I)



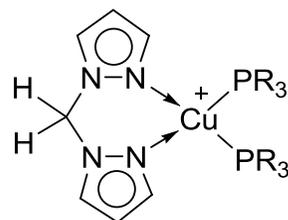
1, 2



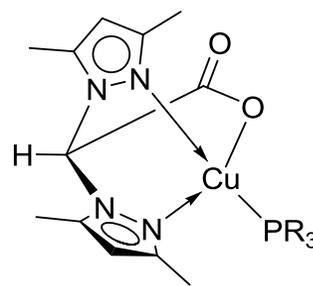
3, 4



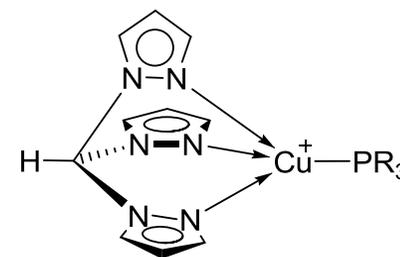
5, 6



7, 8



9, 10



11, 12

Compounds 1- 6 : neutral “2+1+1” Cu(I) complexes

Compounds 7- 8 : charged “2+1+1” Cu(I) complexes

Compounds 9-10 : neutral “3+1” Cu(I) complexes

Compounds 11- 12 : charged “3+1” Cu(I) complexes

Complessi eterolettici di Cu(I) del tipo "3+1" [CuLP]^{0/+} : studio sistematico per la determinazione di una possibile SAR

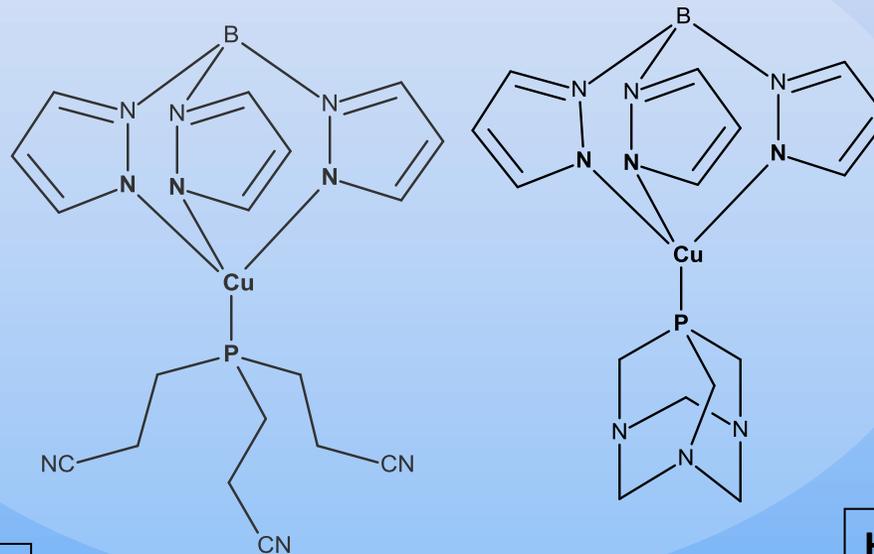
Variazioni di P

L = HBPz₃

P = DAPTA, PPh₃,
P(C₆H₄F)₃, PTASO₂,
thp

L = HBPz₃ P = PCN, PTA

Composti di riferimento



Variazioni dell'anello

L = benzotriazole

P = PCN, PTA

Modificazione della carica

L = CHPz₃

P = PCN, PTA

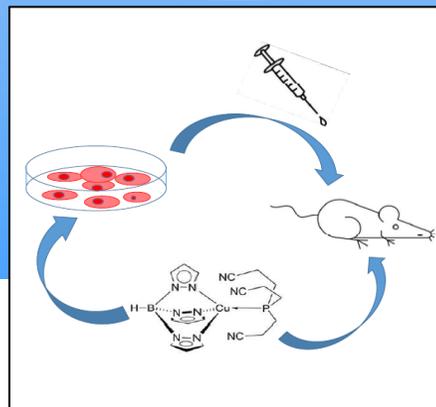
HBPz₃ sostituiti

L = HB(3,5-me-Pz)₃

HB(3-CF₃-Pz)₃

HB(3-NO₂-Pz)₃

P = PCN, PTA



Sviluppi futuri

- Studio di altre proprietà dei complessi di Cu(I) per es. attività antileismaniosi o antiangiogenica
- Utilizzo di complessi di Cu(I) in altri protocolli terapeutici per es. photoactivated therapy con radiazione di sincrotrone
- Studi di massa sull'interazione complesso di rame – biomolecola
- Utilizzo di nanoparticelle di oro per il delivery di composti “3+1” lipofilici come $[(\text{HB}(\text{pz})_3)\text{Cu}(\text{PCN})]$

Possibili interazioni con altre linee di ricerca

- Utilizzo di composti di rame in altri campi: composti di rame(I) con diimine analoghi a quelli da noi sintetizzati sono usati in celle solari (DSSC)
- Utilizzo di sistemi per il delivery (diversi tipi di nanoparticelle)
- Utilizzo di tecniche non convenzionali per studi di interazione a basse concentrazioni
- Studi teorici

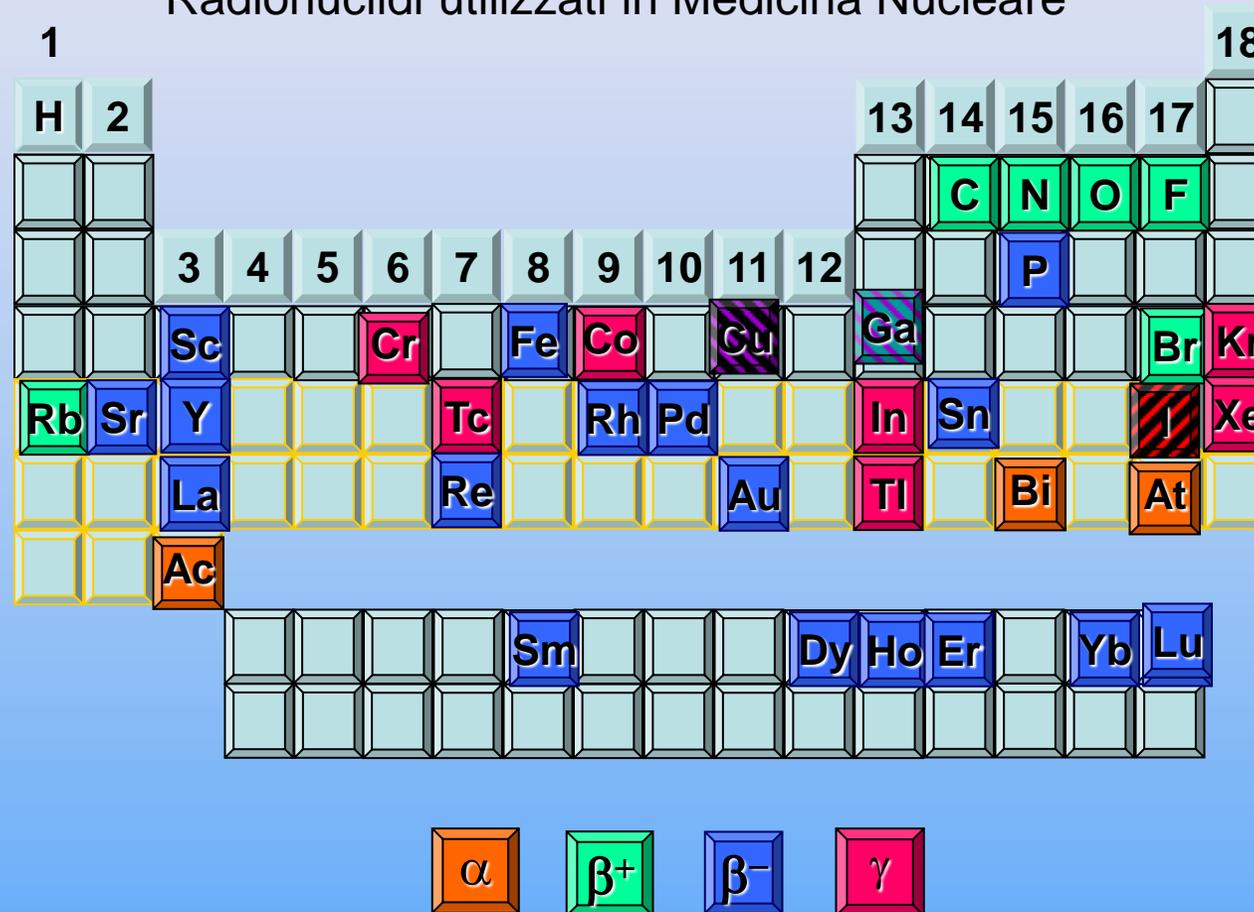
Complessi a base metallica per la diagnosi e la terapia oncologica

RADIOFARMACI



Radiofarmaci

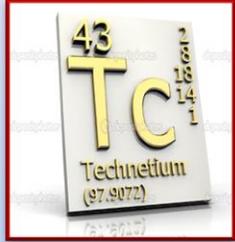
Radionuclidi utilizzati in Medicina Nucleare



Con il termine radiofarmaci si intende una classe di farmaci contenenti un radionuclide e utilizzati in Medicina Nucleare per diagnosi e terapia.

Composti termodinamicamente e cineticamente stabili.

Perchè Tecnezio-99m?



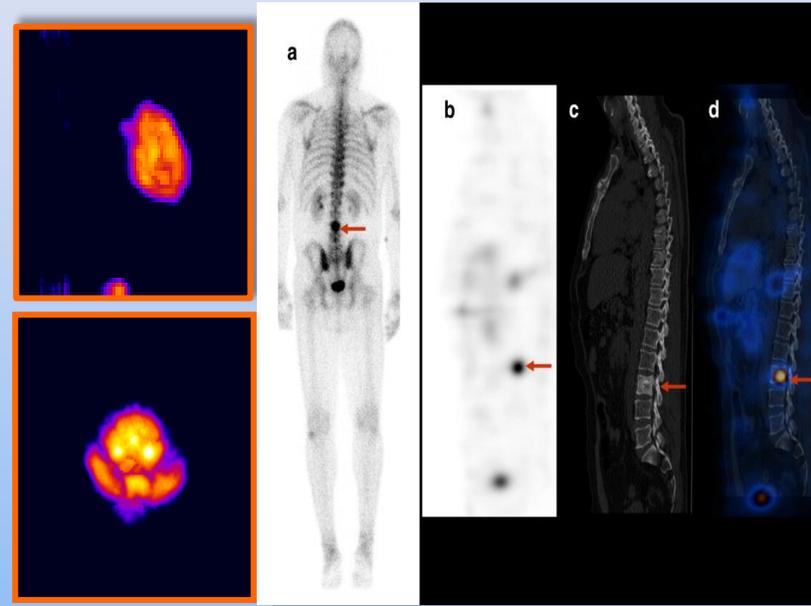
- **Ottime proprietà nucleari (tempo di emivita, energia radiazione gamma)**
- **Basso costo e disponibilità**
- **Versatilità chimica (numerosi stati di ossidazione, diverse geometrie)**



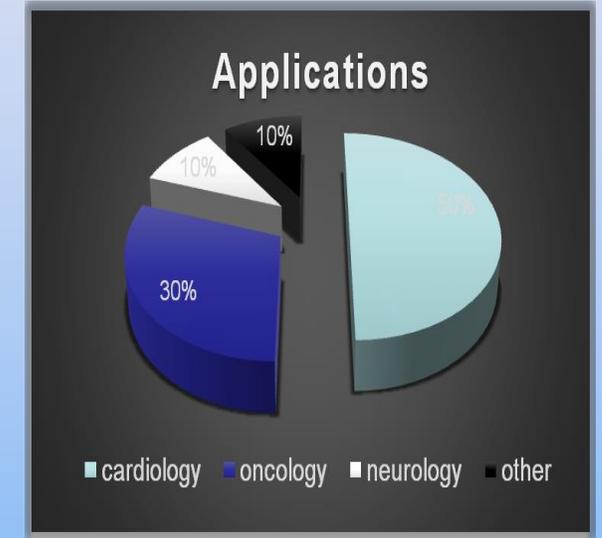
È il radioisotopo di elezione in Medicina Nucleare usato nel più dell'80% delle indagini SPECT (Single Photon Emission Computerized Tomography, Tomografia Computerizzata ad Emissione di Singolo Fotone) (ca 70,000 analisi al giorno a livello mondiale).

Diagnostica per immagini con radiofarmaci

The radiotracer, injected into a vein, emits gamma radiation as it decays. A gamma camera scans the radiation area and creates an image.

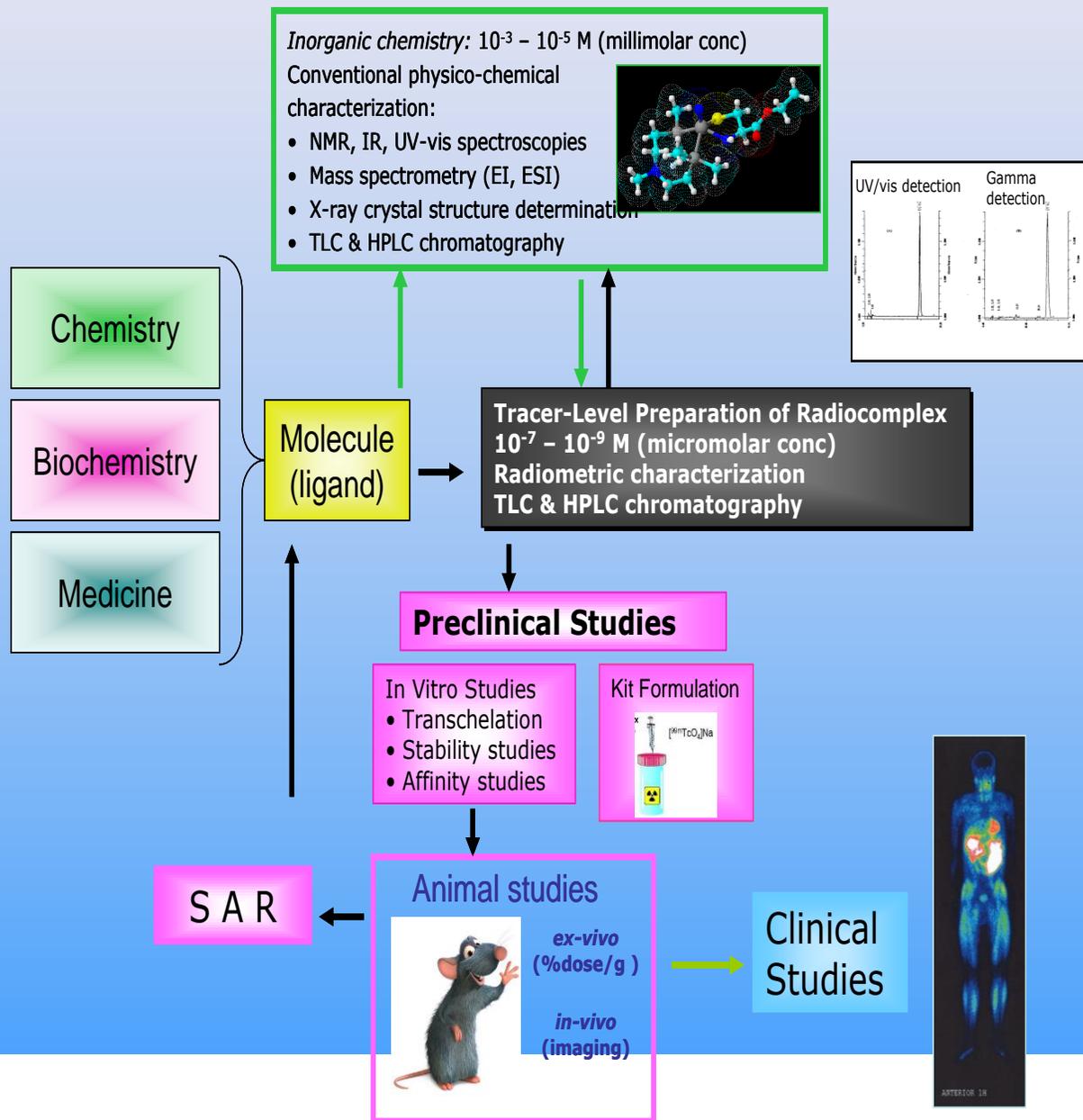


^{99m}Tc -MDP bone planar imaging of an adult patient with a neuroendocrine tumor (a); ^{111}In -Octreotide SPECT/CT images (sagittal projections) of the same patient (b, c, d).



- Descrizione della morfologia degli organi o dei tessuti
- Valutazione della loro funzionalità.

Sviluppo di nuovi radiofarmaci



Proprietà chimiche del Re e del Tc

Chimica versatile

- ✓ Stati di ossidazione accessibili da -I a VII
- ✓ Numero di coordinazione da 4 a 8
- ✓ Vasta gamma di atomi donatori

Similarità

- ✓ Sintesi
- ✓ Strutture

Diversità

- ✓ Potenziale redox
- ✓ Cinetica

Renio e Tecnezio

Radioterapia

^{188}Re $t_{1/2} = 16.9$ ore

$E_{\beta^-} = 2.0$ MeV

^{186}Re $t_{1/2} = 90$ ore

$E_{\beta^-} = 1.1$ MeV



Radiodiagnosi

$^{99\text{m}}\text{Tc}$ $t_{1/2} = 6$ ore

$E_{\gamma} = 142$ KeV

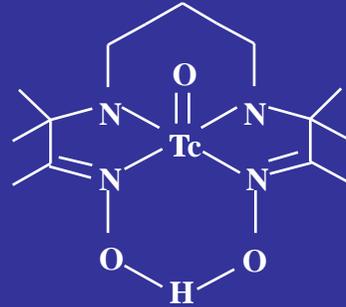
Chimica inorganica

$^{185/187}\text{Re}$
(freddo)

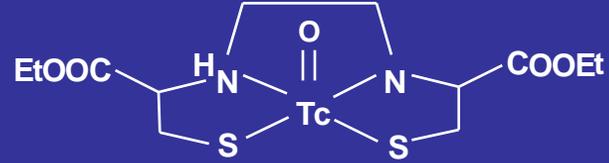
Chimica inorganica

^{99}Tc $t_{1/2} = 2.12 \times 10^5$ anni
 $E_{\beta^-} = 292$ KeV

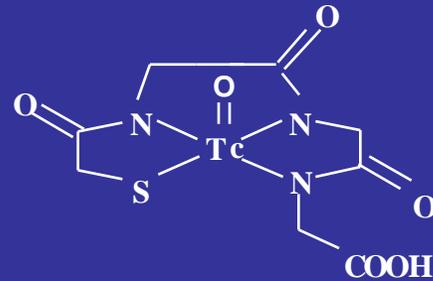
Radiofarmaci commercializzati



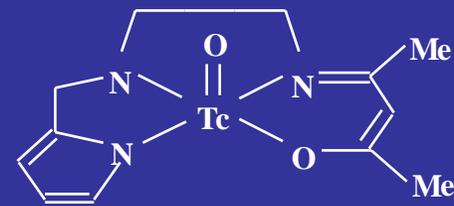
TcO(HM-PAO)
®Ceretec



TcO(ECD)
®Neurolite

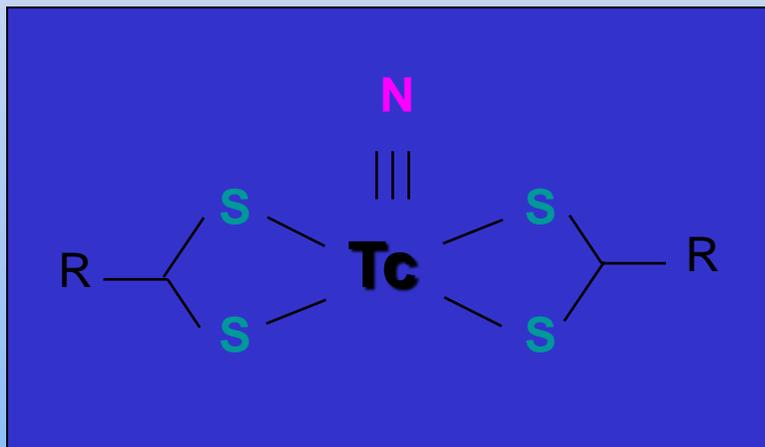


[TcO(MAG₃)]-
®TechneScan

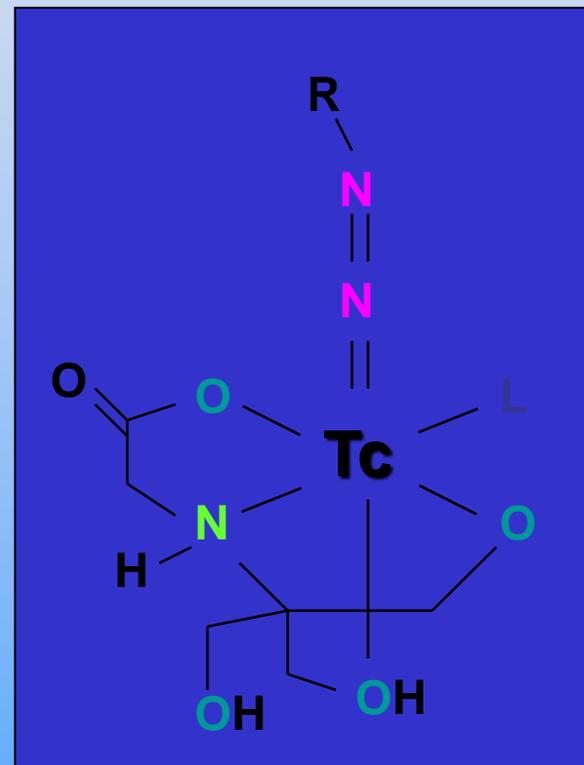


TcO(MRP-20)
®Neuroscint

Prototipi contenenti legami multipli TcN



- [TcN-NOEt]



- 'HYNIC'-derivati

Quale strategia di sintesi?

strategia del frammento metallico

- Sintesi di frammenti molecolari reattivi costituiti dal raggruppamento stabile (core)TcN e una amminodifosfina PNP o dal metallo e due leganti fosfinotiooli PS :



- La sfera di coordinazione del metallo è saturata da leganti polidentati che possono essere coniugati a un vettore molecolare (proteina, peptide, farmacoforo)
- Alla fine si ottiene un complesso mononucleare asimmetrico = una sonda molecolare radiomarcata.

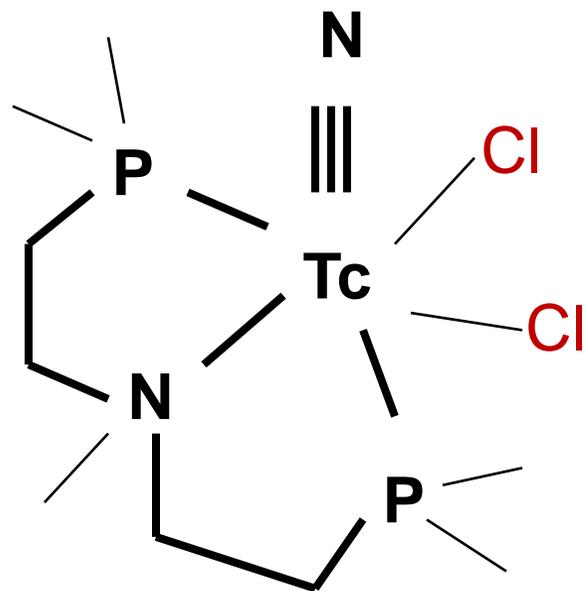
*Presentazioni junior
Martedì h. 9.30*

**Sintesi e valutazione
biologica di complessi di
Tecnecio-99m per la
diagnostica medico-
nucleare.**

Nicola Salvarese

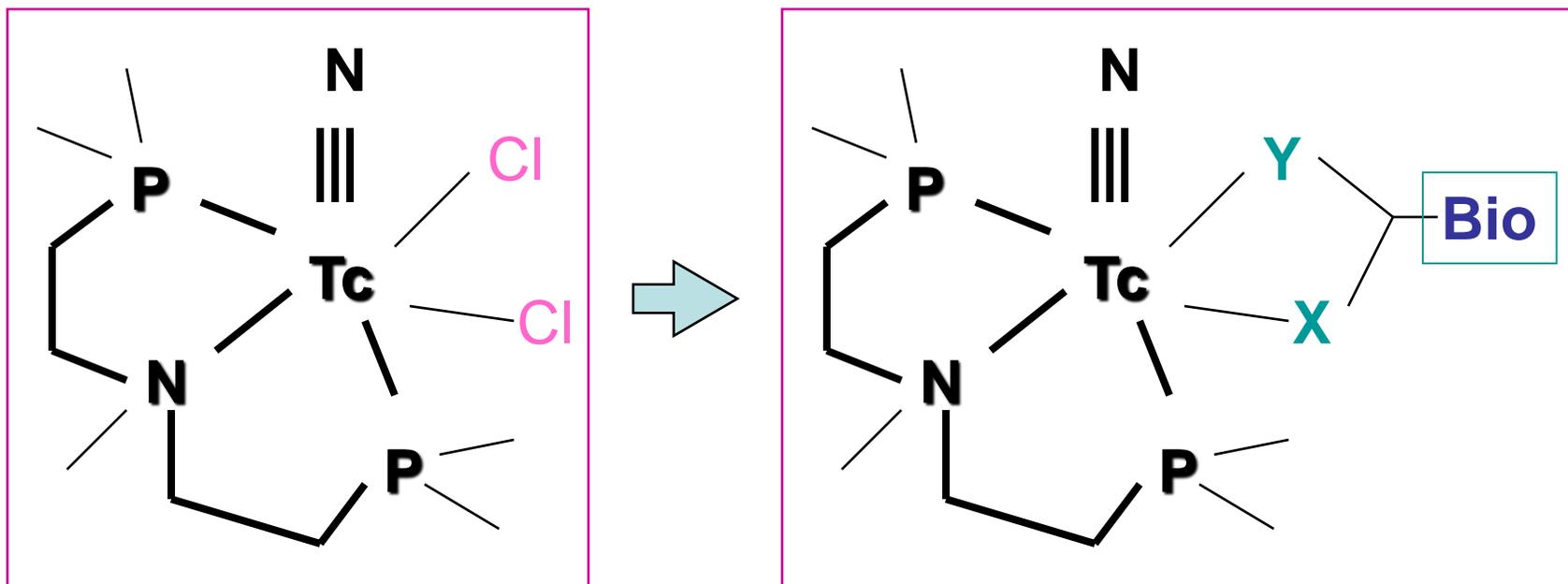
Il frammento metallico $[\text{Tc}(\text{N})(\text{PNP})]^{2+}$

Specie intermedia

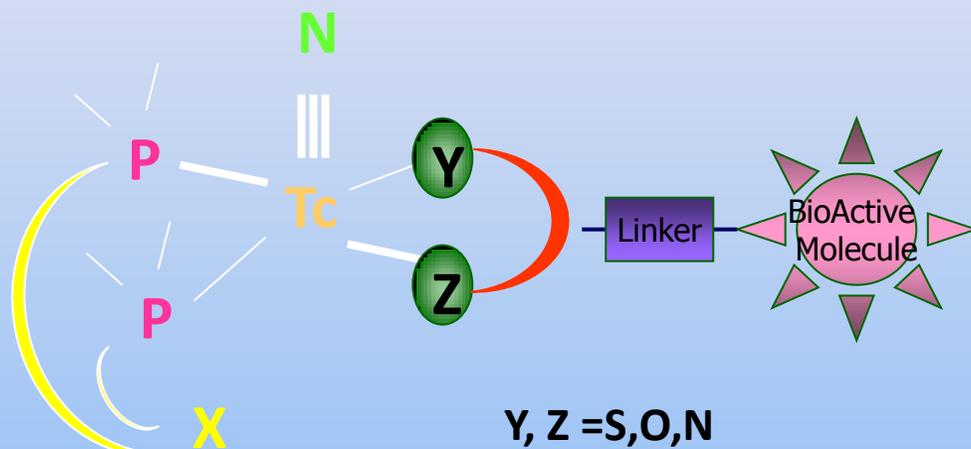


- Tc(V) – configurazione elettronica d^2
- $[\text{Tc}(\text{N})(\text{PNP})]$ inerte alla sostituzione
- Atomi di cloro labile e facilmente sostituibili

Dall'intermedio al complesso misto



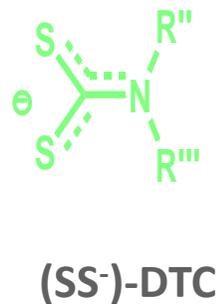
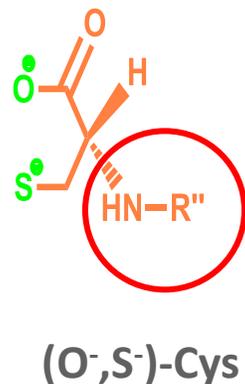
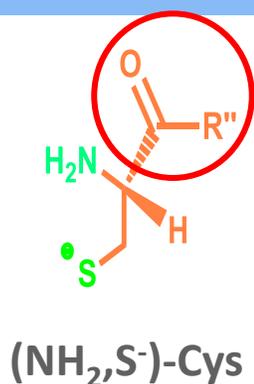
Il frammento metallico $[\text{Tc}(\text{N})(\text{PNP})]^{2+}$



YZ Ligand

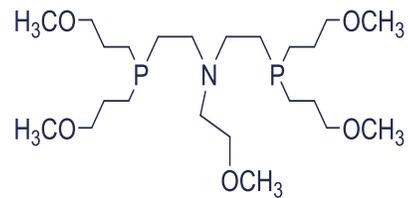
Cisteina:

- molecola naturale contenente atomi donatori S, N, O
- ottimo sistema chelante
- forma complessi molto stabili con il frammento metallico
- in grado di coniugarsi con molecole bioattive attraverso opportuni linker per la sintesi di radiofarmaci target specifici

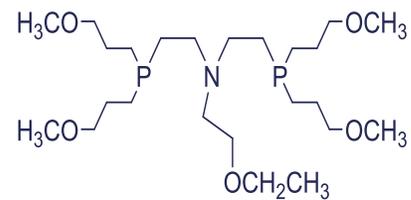


P24. Radio-complessi per il 'targeting' molecolare.
C. Bolzati, F. Refosco, N. Salvarese

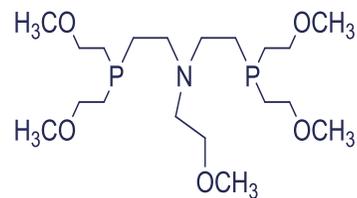
Leganti PNP



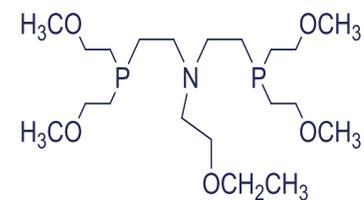
PNP3



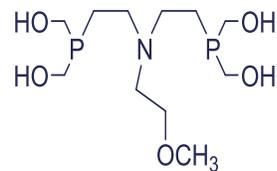
PNP5



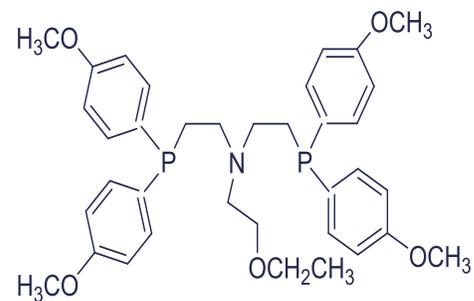
PNP10



PNP7

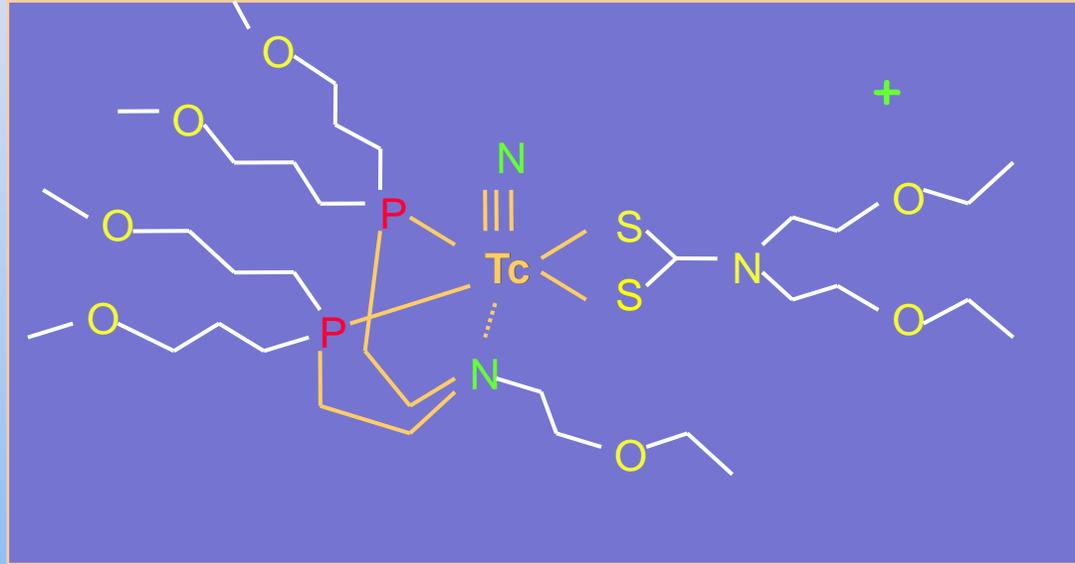


PNP3OH



PNP9

Complessi cationici $[^{99m}\text{Tc}(\text{N})(\text{PNP})(\text{dte})]^+$



$^{99m}\text{Tc}(\text{N})\text{DBODCS}$

- Complessi **cationici del tipo** $[^{99m}\text{Tc}(\text{N})(\text{PNP})(\text{dte})]^+$ sono degli agenti per imaging miocardico con proprietà migliori di molti agenti in commercio
- In questo caso abbiamo la biodistribuzione deriva solo dalle proprietà del complesso: carica , dimensione, sostituenti di PNP
- Agenti Metal Essential

Sistema [Tc(N)(PNP)]²⁺

- La natura asimmetrica di questi complessi permette il tuning delle loro proprietà chimico-fisiche al fine di migliorare la farmacocinetica e modulare le proprietà
- Complessi con una definita natura chimica e ben caratterizzabili
- La cisteina può essere facilmente coniugata a una biomolecola
- Alta efficienza di labeling;
- Alta resa radiochimica del complesso finale ottenuto anche a temperature ambiente con una preparazione in 2 soli steps
- Alta stabilità in vivo dei complessi ottenuti

Sintesi radiofarmaci – PUNTI DI FORZA

- unicità dell'attività di ricerca sul territorio nazionale;
- sviluppo di tecnologie proprie (progettazione e sintesi di prodotti originali ed innovativi);
- multidisciplinarietà (creazione di network nazionali ed internazionali);

Possibili interazioni con altre linee di ricerca

- Utilizzo di sistemi per il delivery.
- Utilizzo fosfine in altri campi di ricerca.

GRAZIE PER L'ATTENZIONE

Presentazioni junior Martedì h. 9.30

Sintesi e valutazione biologica di complessi di Tecnecio-99m per la diagnostica medico-nucleare.

Nicola Salvarese

Poster session:

P7. Complessi fosfinici di rame(I) come potenziali agenti antitumorali.

M.Porchia, F. Tisato

P24. Radio-complessi per il 'targeting' molecolare.

C. Bolzati, F. Refosco, N. Salvarese