

Vida científica

COLABORACIONES EN QUÍMICA

LA INVESTIGACIÓN BÁSICA Y LA APLICADA SON POSIBLES EN LA UNED. EL LABORATORIO DE SÍNTESIS ORGÁNICA E IMAGEN MOLECULAR POR RESONANCIA MAGNÉTICA

Hoy día es casi una imposición la combinación de la investigación básica con la aplicada; nuestro Laboratorio de Síntesis Orgánica e Imagen Molecular por Resonancia Magnética (SOIMRM) es consciente de esta circunstancia y ha impulsado, desde su creación, el desarrollo de una investigación que permita una formación integral de todos sus miembros. Dentro de nuestro grupo se han formado profesores de universidad, personal investigador del CSIC e investigadores de departamentos de I+D+i de industrias farmacéuticas.

Desde su creación en 1992 los investigadores del SOIMRM se han centrado en proyectos que implican el apoyo de la química orgánica al desarrollo de la resonancia magnética biomédica. En este artículo queremos presentar los avances y los logros conseguidos durante estos casi veinte años en los que hemos tratado de realizar una investigación básica que pueda ser fácilmente trasladable a la sociedad.

Es bien conocido que la química orgánica es una de las ramas de la química que es capaz de crear nuevas moléculas con propiedades que pueden ser aplicadas en distintos campos. En este sentido, es posible diseñar y preparar moléculas que contengan grupos indicadores fácilmente detectables por técnicas físicas. Desde el comienzo de nuestras investigaciones, el campo de la imagen por resonancia magnética atrajo fuertemente nuestra atención. Nuestra idea consistía en diseñar moléculas capaces de detectar cambios en el pH celular por resonancia magnética. Y en efecto, a mediados de los años 90 logramos derivados de ácidos imidazol-1-ilalcanoicos que resultaron ser excelentes indicadores de pH extracelular tanto *in vitro* como *in vivo* [1] (Figura 1).

Las colaboraciones con equipos investigadores españoles y estadounidenses nos permitieron obtener los primeros mapas de pH extracelular en tumores implantados en ratas mediante técnicas de imagen espectroscópica. Estos trabajos fueron patentados y licenciados en el año 2000 a una industria farmacéutica española. Las relaciones con esta industria farmacéutica nos permitieron colaborar en su departamento de I+D para realizar investigaciones conjuntas que se presentaron en una Tesis Doctoral que se defendió en 2007 [2]. Debemos mencionar también nuestras cola-

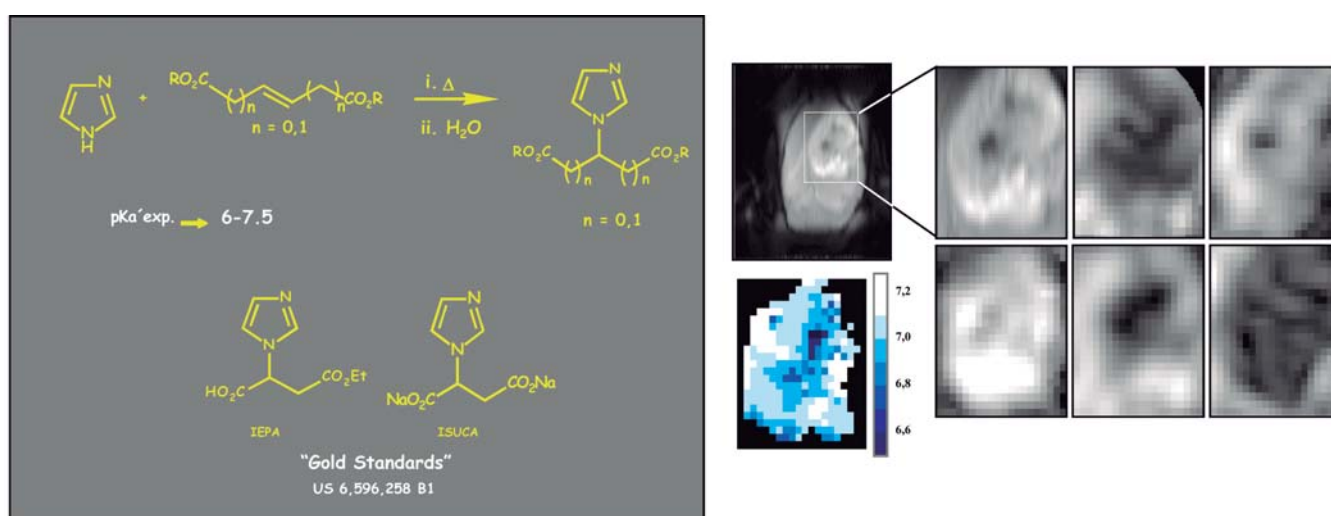


Figura 1. Indicadores de pH extracelular. (Izquierda) Ácidos imidazol-1-ilalcanoicos. (Derecha) Primeros mapas de pH de tumores implantados.

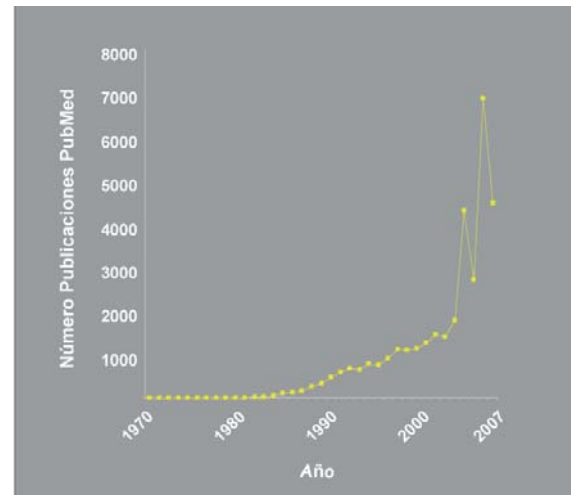
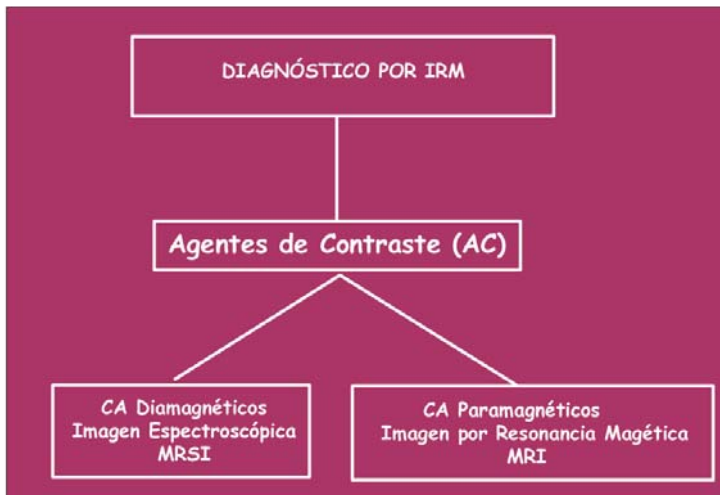


Figura 2. Agentes de Contraste para IRM. (Izquierda) Aplicación en el diagnóstico por IRM. (Derecha) Evolución de la investigación en Agentes de Contraste.

boraciones durante los años noventa con los Profesores Manfred Zeidler y Andreas Dölle de la Universidad de Aquisgrán, con los que mantuvimos una estrecha relación en el desarrollo de proyectos con estudios fisico-químicos de moléculas bio-activas [3].

Las colaboraciones con investigadores básicos del Instituto de Investigaciones Biomédicas del CSIC han sido constantes desde la creación del Laboratorio. Las investigaciones realizadas han dado lugar a Tesis Doctorales y Proyectos co-dirigidos. La labor fundamental de nuestro grupo consiste en el diseño y síntesis de nuevos indicadores o agentes de contraste para imagen por resonancia magnética (IRM)

[4]. La investigación en nuevos agentes de contraste para IRM ha experimentado un desarrollo espectacular desde los años 80 del siglo XX cuando comenzaron a aplicarse en el diagnóstico por IRM.

Nuestro laboratorio ha desarrollado desde entonces agentes de contraste tanto diamagnéticos como paramagnéticos [5]. Los primeros se han sintetizado para obtener imágenes espectroscópicas de pH [6] y de pO_2 [7]. Dentro de los agentes de contraste paramagnéticos, nuestro grupo ha investigado en el campo de la coordinación de las complexonas heterocíclicas [8].

Paralelamente a los trabajos preparativos, también hemos investigado y puesto a punto métodos de cálculo computacional para la modelización de algunos agentes de contraste [9].

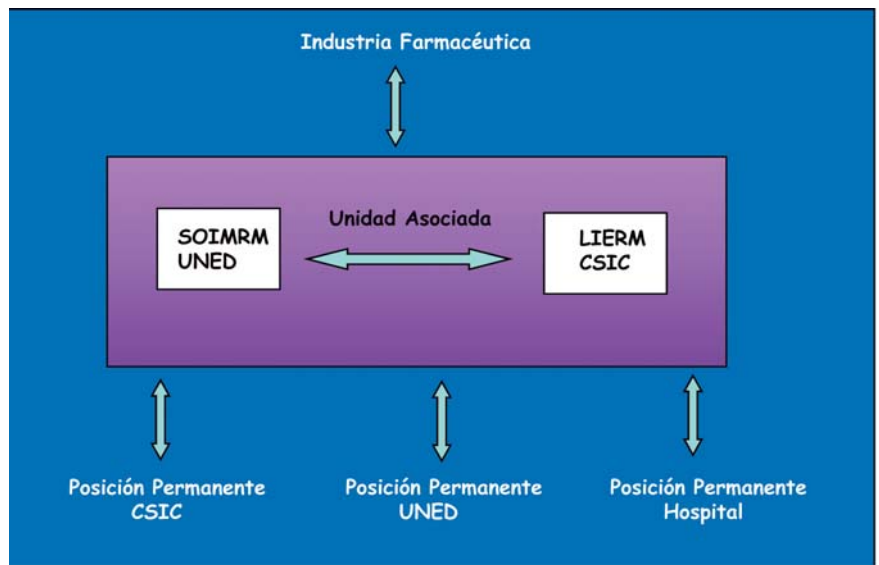


Figura 3. Evolución de los investigadores del Grupo Estratégico en Biomedicina de la Comunidad de Madrid.

Como consecuencia de nuestros trabajos aplicados a la biomedicina, desde 2000 a 2003 fuimos elegidos por la Comunidad de Madrid Grupo estratégico en dicha disciplina. Durante ese periodo participaron diversos investigadores que, en la actualidad son personal estable de la Universidad, de Hospitales, de Empresas Farmacéuticas o del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (Figura 3).

Por otro lado, las colaboraciones continuadas con el Laboratorio de Imagen y Espectroscopía por Resonancia Magnética (LIERM) del Instituto de Investigaciones Biomédicas “Alberto Sols” del CSIC han propiciado en 2007 la firma de una Unidad Asociada entre el SOIMRM y el LIERM (Figura 4).

Durante los últimos años nuestros proyectos de investigación en agentes de contraste se han dirigido



Figura 4. Personal de la Unidad Asociada UNED-CSIC creada en 2007 y renovada en 2010.

hacia el estudio de la anisotropía magnética con el fin de encontrar agentes de contraste que puedan discriminar los flujos laminares de los turbulentos. Los agentes de contraste paramagnéticos clásicos derivados de complejos de gadolinio presentan una simetría esférica y el agua puede difundir fácilmente entre ellos dentro del campo magnético, y no se aprecia diferente intensidad de contraste según la dirección en la que se ha obtenido la imagen (Figura 5A). Sin embargo, cuando el agente de contraste tiene una estructura tubular o cilíndrica capaz de orientarse paralela al campo magnético, produce una alteración en la difusión del agua de tal manera que esta difunde con más facilidad en esa dirección y provoca un mayor contraste en la imagen (Figura 5B).

Nuestro grupo demostró esta hipótesis utilizando nanotubos de carbono contaminados con metales paramagnéticos (Figura 6) [10], [11]. Estas investigaciones son parte de proyectos financiados por Consorcios Europeos (MEDITRANS) [12] y por la Comunidad de Madrid (MULTIMAG) [13].

En la actualidad, parte de estas investigaciones se están realizando en colaboración con la profesora Luisa Schenetti de la Universidad de Módena [14] y con la profesora Arisbel Cerpa Naranjo de la Universidad Europea de Madrid [15].

El conocimiento adquirido en los diversos métodos espectroscópicos ha sido reconocido por la Comuni-

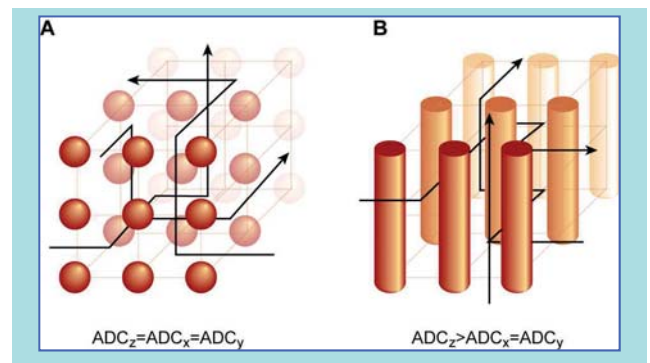


Figura 5. (Izquierda) Coeficiente de difusión aparente (ADC) isotrópico del agua en disoluciones de agentes de contraste esféricos. (Derecha) ADC del agua en presencia de agentes de contraste cilíndricos alineados paralelos al campo magnético.

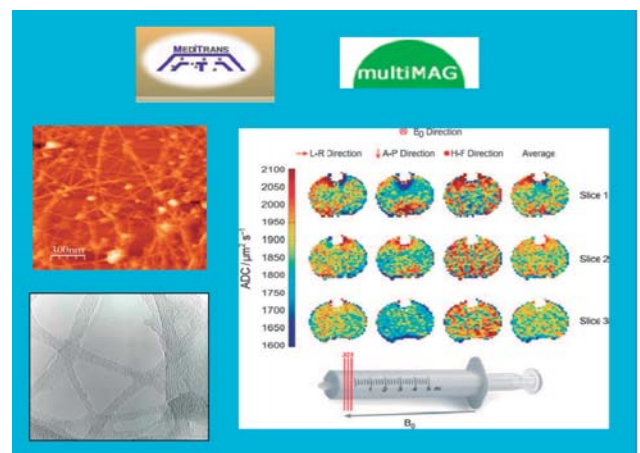


Figura 6. (Izquierda) Microscopía de Fuerza Atómica AFM y de Transmisión Electrónica TEM de los nanotubos de carbono de monocapa (SWNTs). (Derecha) Imágenes ADC obtenidas en un espectrómetro de imagen de 7T.

dad de Madrid en 2005 cuando fuimos seleccionados como el Laboratorio de Referencia 250 de la Comunidad. La financiación concedida nos permitió ampliar el equipamiento inicial adquirido en 2001 durante nuestro periodo como Grupo Estratégico: Espectrómetro de RMN de bajo campo para medidas de Tiempos de Relajación a 1,6 Tesla; Espectrofotómetro FT/IR con ATR (Figura 7).

Durante los años 2008 y 2009 hemos instalado un cromatógrafo de HPLC acoplado a un sistema de Espectrometría de Masas Cuadrupolo y un Espectrómetro de RMN de 400 MHz (Figura 8).

La experiencia adquirida durante todos estos años en la gestión de investigación y en el mantenimiento de los laboratorios con recursos propios nos ha animado a crear la primera Spin-Off de la UNED que se denomina

SOIREM. Esta empresa entrará en funcionamiento en 2011 y se dedicará a sintetizar para terceros compuestos de diagnóstico preclínico y a realizar estudios espectroscópicos para centros de investigación. Desarrollará proyectos de I+D y acciones formativas para empresas y centros de investigación. Estas tareas supondrán un aprovechamiento complementario del conocimiento investigador y de los equipos cedidos

Figura 7. Laboratorio SOIMRM. Arriba. Vitrinas de síntesis. (Izquierda) Espectrofotómetro FT/IR-ATR. (Derecha) Espectrómetro RMN de tiempos de relajación 1,5 T.

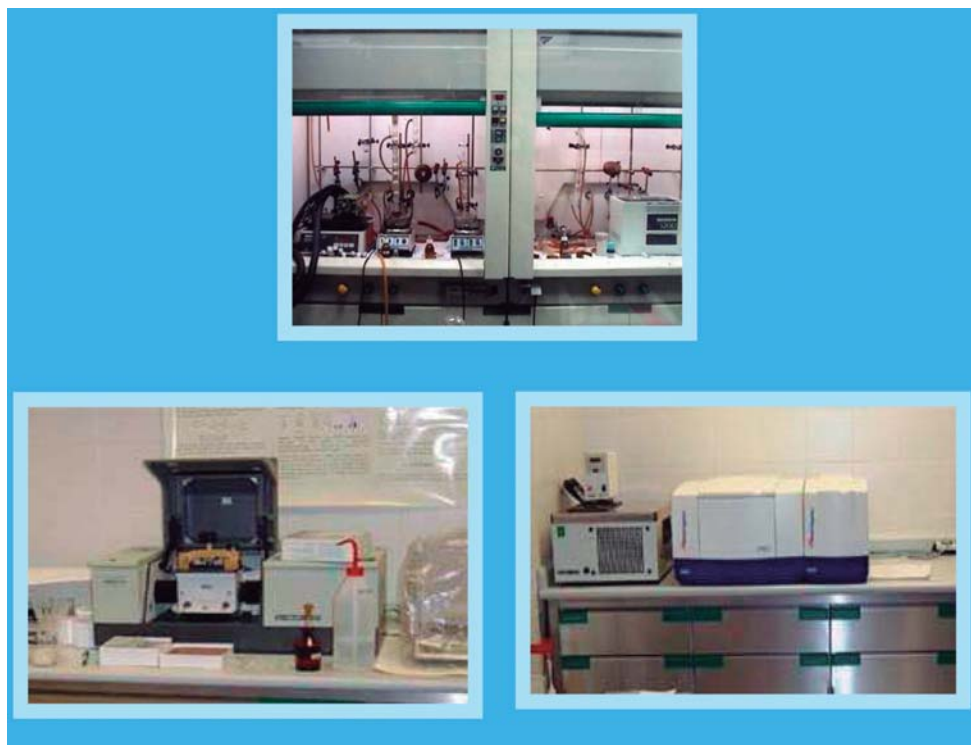


Figura 8. (Izquierda) Cromatógrafo de HPLC-Masas. (Derecha) Espectrómetro de RMN 400 MHz.

para su uso (25%) después de realizadas las labores docentes e investigadoras.

Finalmente, queremos expresar nuestro más sincero agradecimiento a todos los investigadores que han colaborado en la creación y el desarrollo de nuestro laboratorio.

*No existe ciencia básica y aplicada,
sino ciencia y las aplicaciones de la ciencia*
Louis Pasteur

REFERENCIAS

- [1] a) S. Gil, P. Zaderenko, F. Cruz, S. Cerdan, P. Ballesteros, *Imidazol-1-ylalkanoic Acids as Extrinsic ¹H NMR Probes for the determination of Intracellular pH, extracellular pH and Cell Volume*, *Bioorg. Med. Chem.*, 2, 305-314 (1994); b) P. Zaderenko, M. S. Gil, P. Ballesteros, S. Cerdán, *Synthesis and Regioselective Hydrolysis of 2-Imidazol-1-ylsuccinic Esters*, *J. Org. Chem.*, 59, 6268-6273, (1994); c) R. van Sluis, Z. M. Bhujwala, N. Raghunand, P. Ballesteros, J. Alvarez, S. Cerdán, J.-Ph. Galons, R. J. Gillies, *In vivo imaging of extracellular pH using ¹H MRSI*, *Magn. Reson. Med.* 41, 743-750 (1999); *Mapping extracellular pH in rat brain gliomas in vivo by ¹H magnetic resonance spectroscopy: comparison with maps of other metabolites*, *Cancer Res.* 61, 6524-6531 (2001); d) Z. Bhujwala, D. Artemov, P. Ballesteros, S. Cerdán, R. J. Gillies, M. Solaiyappan, *Combined vascular and extracellular pH imaging of solid tumors*, *NMR in Biomedicine* 15, 114-119 (2002); e) P. Provent, M. Benito, B. Hiba, R. Farion, P. Lopez-Larrubia, P. Ballesteros, Ch. Remy, Ch. Segebarth, S. Cerdan, J. A. Coles, M. L. Garcia-Martin, *Serial In vivo Spectroscopic Nuclear Magnetic Resonance Imaging of Lactate and Extracellular pH in Rat Gliomas Shows Redistribution of Protons Away from Sites of Glycolysis*, *Cancer Research*, 67, 7638-7645 (2007).
- [2] M. García Amo, Laboratorios Farmacéuticos Rovi, S.A. *Desarrollo de nuevos péptidos no naturales que facilitan la absorción intestinal de heparinas de bajo peso molecular*, Tesis Doctoral, Universidad Complutense de Madrid (2007).
- [3] Acciones Integradas Hispano-Alemanas (UNED-RWTH Aachen University, 1994-1995).
- [4] A. E. Meerbach, E. Toth, Eds. *The Chemistry of Contrast Agents in Medical Magnetic Resonance Imaging*, John Wiley & Sons, Ltd., Chichester (2001).
- [5] J. Pacheco-Torres, D. Calle, B. Lizarbe, V. Negri, C. Ubide, R. Fayos, P. López-Larrubia, P. Ballesteros, S. Cerdan. *Environmentally Sensitive Paramagnetic and Diamagnetic Contrast Agents for Nuclear Magnetic Resonance Imaging and Spectroscopy*, *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 11, 115-130 (2011).
- [6] P. Zaderenko Partida, *Ácidos y ésteres imidazol-1-ilalcanoicos. Indicadores extrínsecos de pH y volumen celular por ¹H RMN*, Tesis Doctoral, UNED (1996).
- [7] J. PACHECO TORRES, *Nuevos agentes de contraste de tensión de oxígeno por resonancia magnética*, Tesis Doctoral, Universidad Autónoma de Madrid (2010).
- [8] P. López Larrubia, *Diseño, síntesis y propiedades de nuevos agentes de contraste para resonancia magnética biomédica*, Tesis Doctoral, UNED (1999).
- [9] E. Soriano Santamaría, *Química computacional de agentes de contraste para resonancia magnética biomédica*, Tesis Doctoral, UNED (2003).
- [10] V. Negri, A. Cerpa, P. López-Larrubia, L. Nieto-Charques, S. Cerdán, P. Ballesteros, *Nanotubular paramagnetic probes as contrast agents for magnetic resonance imaging based on the diffusion tensor*. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 49, 1813 -1815 (2010).
- [11] V. Negri, *Nanotubos marcados magnéticamente como agentes de contraste para imagen vascular por resonancia magnética*, Tesis Doctoral, UCM (en curso desde 2006).
- [12] Targeted Delivery of Nanomedicine: <http://www.meditrans-ip.net/consortium-details.html>
- [13] Grupo de Estudios Biociencias: <http://www.nds.es/multimag/>
- [14] Convenio específico de investigación firmado con el SOIMRM en 2010.
- [15] Beneficiario Asociado a los Proyectos del MICINN: CTQ2009-14146-C02-01 y 2010-20960-C02-01.

Paloma Ballesteros García, Viviana Negri y
Carmen Ubide Barreda
SOIMRM, Facultad de Ciencias, UNED