



FACULTAD DE FARMACIA

*Evolución y desarrollo de los complejos de
rutenio como agentes antitumorales*

Alejandro Herrero Lorenzo



GRADO EN FARMACIA (FACULTAD DE FARMACIA)
TRABAJO FIN DE GRADO. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA
EVOLUCIÓN Y DESARROLLO DE LOS COMPLEJOS DE RUTENIO COMO
AGENTES ANTITUMORALES

ALEJANDRO HERRERO LORENZO

TUTORA: INMACULADA FERNÁNDEZ FERNÁNDEZ

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÁNICA Y FARMACÉUTICA

LUGAR Y FECHA DE PRESENTACIÓN: FACULTAD DE FARMACIA (1-5 DE
JULIO 2019)

RESUMEN

En este trabajo se presenta una revisión sobre la evolución y desarrollo de los complejos de rutenio usados en terapia antitumoral. Teniendo en cuenta el diseño racional de fármacos organometálicos y la necesidad de aumentar la efectividad y disminuir la toxicidad de los complejos más usados hasta día de hoy, como son el cisplatino y sus análogos, el rutenio se presenta como el candidato más prometedor para elaborar nuevos complejos metálicos anticancerígenos. Por un lado, el rutenio debido a sus estados de oxidación, la geometría de sus complejos de coordinación y la naturaleza de sus ligandos, ofrece un amplio abanico de mecanismos de acción y de dianas terapéuticas a las que se dirige.

Además, reduce los efectos secundarios que tantos problemas han ocasionado en la terapia antitumoral organometálica, debido a una mayor selectividad por las células cancerosas. Todo esto, ha despertado un interés por el estudio y el desarrollo de una gran cantidad de complejos basados en rutenio en los que las modificaciones de sus ligandos, en su mayoría aniónicos, han ocasionado una verdadera mejora en su actividad.

Por otro lado, la nanotecnología está cada vez más presente en la terapia antitumoral, usando nanosistemas para administrar los complejos de rutenio (II). No obstante, aunque muchos complejos de rutenio han proporcionado resultados muy prometedores, tan sólo un número reducido han conseguido demostrar eficacia en modelos *in vivo* y pasar a ensayos clínicos. En este trabajo de revisión nos hemos centrado en los complejos de rutenio en sus dos principales estados de oxidación (+2 y +3) y en el uso de la nanotecnología para mejorar la eficacia y seguridad de éstos, proporcionando una perspectiva de futuro en el uso de estos sistemas en la terapia antitumoral.

Palabras clave: Rutenio, complejo, ligandos, antitumoral, organometálico.

ÍNDICE

1.INTRODUCCIÓN.....	1
2.OBJETIVOS DE LA REVISIÓN.....	3
3.METODOLOGÍA.....	4
4.RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	4
4.1.Generalidades.....	4
4.2.Complejos de rutenio (II).....	6
4.2.1. Complejo NAMI-A.....	7
4.2.2. Complejos KP1019/ NKP1339.....	9
4.3.Complejos de rutenio (II).....	10
4.3.1. Complejos de rutenio (II) con ligandos polipiridina.....	11
4.3.1.1. Complejo TLD-1443.....	12
4.3.2.Complejos de rutenio (II) con ligandos areno.....	14
4.3.2.1. Complejos RAPTA.....	14
4.3.2.2. Complejos RM175/ ONCO4417.....	16
4.3.2.3. Complejos areno multinucleares.....	17
4.3.3.Complejos de rutenio (II) como inhibidores de proteínas.....	18
4.3.3.1. Complejo DW1/2.....	20
4.3.4.Sistemas de nanomateriales basados en rutenio (II).....	21
4.3.4.1. Nanopartículas de selenio.....	22
4.3.4.2. Nanopartículas de oro.....	22
4.3.4.3. Nanopartículas de sílice.....	23
4.3.4.4. Nanotubos de carbono.....	25
5.CONCLUSIONES.....	26

ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

DMSO: dimetilsulfóxido

ROS: especies reactivas de oxígeno

GSH: glutatión

GST: glutatión-S-transferasa

FDA: administración de alimentos y medicamentos americana

ADN: ácido desoxirribonucleico

ARN: ácido ribonucleico

PDT: terapia fotodinámica

NIR: región espectral del infrarrojo cercano

GMP: guanosina monofosfato

MSNP: nanopartículas de sílice mesoporosas

MWCNT: nanotubos de carbono de paredes múltiples

SWNT: nanotubos de carbono de pared simple

MDM2: gen/proteína “doble minuto murino” 2

MDM4: gen/proteína “doble minuto murino” 4

AChE: acetilcolinesterasa

Pimp-1: protooncogén serina / treonina quinasa Pimp-1

MSK-1: proteína quinasa 1 activada por mitógeno y estrés

GSK-3: glucógeno sintasa quinasa 3

RGD: péptido arginina-glicina-ácido aspártico

1. INTRODUCCIÓN

El aumento de la incidencia de cáncer en todo el mundo es un problema real que necesita de investigación y desarrollo de nuevas terapias antitumorales. Con el descubrimiento de la genómica y los avances en el estudio de los procesos biológicos del cuerpo humano, podemos estudiar el cáncer a nivel molecular y enfocar esos estudios para comprender ante qué nos enfrentamos realmente, para poder atacar este problema de la forma mas adecuada.

El estudio del metabolismo del cuerpo humano es una herramienta fundamental para el diseño racional de fármacos, ya que aunque la aleatoriedad para el descubrimiento de fármacos siempre esté presente, con el paso de los años y el estudio de las dianas terapéuticas, se ha optimizado mucho el proceso de diseño racional de los fármacos. En el caso de los fármacos organometálicos hay que tener en cuenta y controlar las reacciones que sufre el complejo metálico desde que es administrado hasta que llega a su diana terapéutica. Este proceso es uno de los más problemáticos, ya que los complejos sintetizados deben ser inertes a las reacciones de sustitución de ligandos y reacciones redox o, al menos, se deben controlar estas reacciones bajo condiciones biológicas para garantizar que el fármaco llegue con todo su potencial hacia el objetivo terapéutico (Barry & Sadler,2013).

La química inorgánica medicinal puede usar tanto elementos esenciales, por ejemplo Zn o Fe, como elementos no esenciales, por ejemplo Pt o Ru.

Los complejos metálicos de transición, suponen una fuente de recursos a explotar en el ámbito de la terapia contra el cáncer, debido a sus diferentes modos de acción, que se pueden clasificar de la siguiente manera: (i) Funcional: El fragmento de metal se une directamente a la diana biológica, (ii) Estructural: El complejo metálico se une a la diana biológica mediante interacciones no covalentes,.(iii) Transportadora: El metal protege al ligando antes de la salida de éste, (iv) Catalítica: El daño celular ocurre a través de la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y (v) Fotoactiva: El complejo metálico se comporta como un fotosensibilizador (Gianferrara et al., 2009).

Entre los diferentes complejos organometálicos con utilidad terapéutica destaca el cisplatino. El cisplatino o *cis*-diaminodicloroplatino(II) (**1**) (figura 1), es un complejo alquilante que fue aprobado por la FDA en 1978. Es el complejo metálico más usado en oncología y ha demostrado eficacia contra numerosos tipos de cáncer, tales como el de

ovario, testículos, vejiga o pulmón. Su mecanismo de acción se basa en la activación mediante la hidrólisis de sus ligandos aniónicos, provocando daños irreparables en el ADN, inhibiendo las ADN y ARN polimerasas, interfiriendo en la división celular y la muerte celular programada. En 1993 y en 2002 se aprobaron los análogos, carboplatino (2) y oxaliplatino (3) (figura 1) (Lazarević et al., 2017).

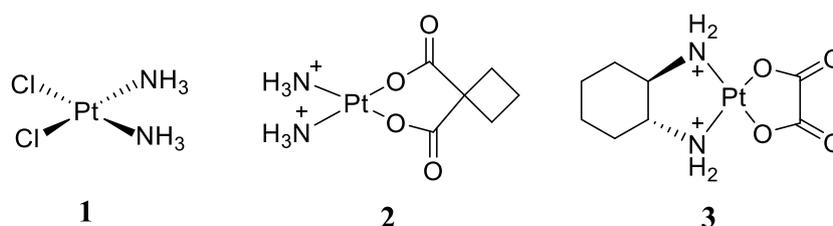


Figura 1. cisplatino (1), carboplatino (2) y oxaliplatino (3).

Estos complejos, junto con el cisplatino, todavía están bajo investigación debido a su participación en numerosos ensayos clínicos activos. Estos medicamentos continúan siendo fundamentales en las terapias contra el cáncer, pero su uso generalizado se ve limitado debido a los numerosos efectos secundarios que producen debido a su falta de selectividad sobre las células. Las células sanas que suelen atacar son las que crecen rápidamente, como las del tracto gastrointestinal, la médula ósea o los folículos pilosos, ya que son reconocidas por estos fármacos como células cancerosas y ocasionan numerosas reacciones adversas. El cisplatino, también es particularmente nefrotóxico y se han descrito casos graves de neuropatías y pérdida de la función motora asociadas a su uso. Por otro lado, también se ha descrito ototoxicidad en el uso de éstos fármacos, además de reacciones muy frecuentes asociadas al sistema sanguíneo, como anemia, trombocitopenia o leucopenia, debido, por ejemplo, al ataque antes mencionado de estos fármacos a células de rápida división como pueden ser las de la médula ósea (Breglio et al., 2017).

Otro problema asociado a este tipo de complejos es la aparición de fenómenos de resistencia durante el tratamiento. La resistencia puede ser debida al desarrollo de diferentes procesos tales como: una disminución del flujo de entrada o un aumento del flujo de salida del fármaco, aumento del glutatión o la conjugación de metalotioneína, la desintoxicación del fármaco, reparación del ADN o la omisión de lesiones durante la replicación del ADN. Los mecanismos de resistencia se pueden agrupar en dos tipos: (i) Los mecanismos que limitan la formación de aductos de Pt-ADN o (ii) Los

mecanismos que evitan la muerte de células cancerosas después de la formación de aductos (Rabik & Dolan, 2007)

Para dar solución a estos problemas se desarrollaron fármacos que incorporan metales distintos al platino en su estructura y que muestran igual o mayor actividad y menor toxicidad. Entre los investigados el metal más prometedor es el rutenio, un metal de transición del grupo del hierro que presenta una serie de características que lo hacen ser un candidato perfecto. En primer lugar el rutenio se acumula preferentemente en masas cancerosas en lugar de tejidos sanos, probablemente utilizando la transferrina para entrar en los tumores, ya que éstos tienen una mayor densidad de receptores de transferrina que las células sanas. En segundo lugar, el rutenio en su estado de oxidación +3, permanece relativamente inactivo hasta que alcanza la diana terapéutica, donde una mayor acidez y un menor grado de oxígeno permiten una reducción a Ru(II), que es más reactivo que el Ru(III). Y en tercer lugar, algunos complejos de rutenio demuestran incluso mayor eficacia contra las metástasis del cáncer que contra los tumores primarios (Kostova, 2006).

Por todas estas características y otras que mencionaremos a lo largo de este trabajo de revisión, los complejos de rutenio se han convertido en una pieza fundamental en la terapia organometálica contra el cáncer.

2. OBJETIVOS DE LA REVISIÓN

Los complejos de rutenio como agentes antitumorales, son en la actualidad una de las propuestas más esperanzadoras para el tratamiento de numerosos tipos de cáncer, debido a las mejoras de actividad, selectividad y disminución de los efectos adversos con respecto a sus predecesores, el cisplatino y análogos.

En este Trabajo de Fin de Grado, nos hemos centrado en recopilar la evolución y el desarrollo de estos complejos, así como aportar una visión actual de los complejos que están en estudios clínicos o en condiciones de estarlo. El objetivo de la revisión también incluye el estudio de los diferentes mecanismos de acción de los complejos de rutenio en sus principales estados de oxidación (II) y (III) y sus aplicaciones en terapia anticancerosa. Por último, nos proponemos a dar una perspectiva de futuro en la utilización de estos complejos en el ámbito de la nanotecnología.

3. METODOLOGÍA

En la búsqueda bibliográfica que se ha realizado para elaborar este trabajo, se han consultado varias bases de datos de reconocido prestigio, tales como: SciFinder, PubMed, Scopus y Web of Science.

Para realizar la búsqueda de información se han usado como entradas las siguientes palabras claves: ruthenium, complex, organometallic, therapy, cancer, antineoplastic. La búsqueda realizada se filtró marcando únicamente reviews como tipo de documento, que éstos fueran de libre acceso y además descartando publicaciones anteriores a 2017, obteniendo una visión completamente actual sobre el tema y pasando posteriormente a consultar los trabajos científicos de interés. Las fuentes en las que se basan estos reviews no han sido acotadas de ninguna manera.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Generalidades

El rutenio es un metal de transición que se encuentra en el grupo 8 de la tabla periódica, el ión posee geometrías de coordinación octaédricas (figura 2) y los dos principales estados de oxidación del metal son (II) y (III). El rutenio también forma compuestos con estados de oxidación más altos como es el (IV), pero generalmente no se usan con fines terapéuticos debido a la inestabilidad que poseen (Zeng et al., 2017).

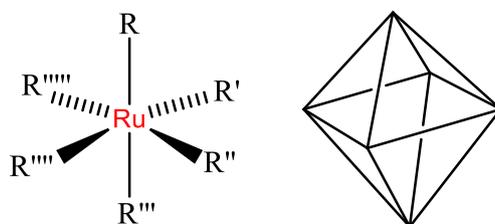


Figura 2. Complejo metálico de rutenio con geometría octaédrica.

El rutenio se encuentra en la naturaleza en pocos minerales y normalmente se encuentra en aleaciones con otros metales del grupo del platino. La estabilidad termodinámica y cinética de los compuestos de Ru(II) es mayor que la de los compuestos de Ru(III). La cinética de hidratación de los compuestos de Ru(II/III) dependen de la carga neta y la naturaleza de los ligandos. Para mejorar la solubilidad de estos compuestos se pueden modificar las estructuras de los ligandos o encapsular los compuestos de rutenio en nanomateriales, entre otras estrategias.

En los últimos años se ha encontrado que diferentes complejos organometálicos de rutenio presentan actividad antitumoral. Los mecanismos de acción de los complejos de Ru(II) y (III) son variados y dependen de la naturaleza de los ligandos que poseen y la diana a la que van dirigidos. Cuando se descubrieron los primeros agentes antitumorales a base de rutenio, se propuso el ADN como única diana terapéutica, ya que los átomos del metal deficientes en electrones actuaban como aceptores frente a fragmentos nucleófilos del ADN ricos en electrones, mediante la hidrólisis previa de los ligandos. Además los complejos de Ru pueden unirse al ADN mediante interacciones con ligandos aromáticos (mecanismo que detallaremos más adelante en el apartado de complejos con ligandos arenos). Estas interacciones pueden ser covalentes y no covalentes, siendo irreversibles y reversibles respectivamente.

Posteriormente se descubrió que no sólo el ADN era la diana de este tipo de compuestos, incluyendo a las proteínas como otro posible objetivo terapéutico, especialmente las quinasas. Esta propuesta se basa en el conocimiento de que algunas enzimas juegan un papel clave en las vías metabólicas para la captación intercelular, la muerte celular o la proliferación de las células cancerosas. Los agentes antitumorales especialmente los complejos de Ru(II) tienen el potencial para inhibir las proteínas quinasas debido a sus propiedades fisicoquímicas o capacidad de direccionamiento que consiguen gracias a la modificación de los ligandos.

Algunas de estas proteínas son AChE (Acetilcolinesterasa), Pim-1 (Serina/Treonina proteína quinasa Pim-1), MSK-1 (Proteína quinasa 1 activada por mitógeno y estrés), GSK-3 (Glucógeno sintetasa quinasa 3) o GST (Glutación S-transferasa). (Zeng et al., 2017)

En la siguiente tabla se indican algunos de los ligandos más utilizados en los complejos de Ru (II) y (III), junto con algún ejemplo (tabla 1).

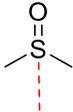
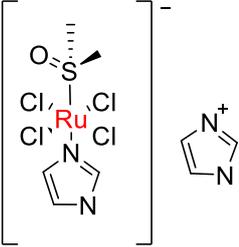
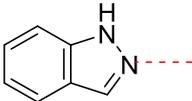
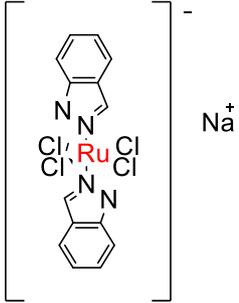
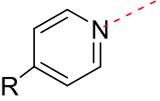
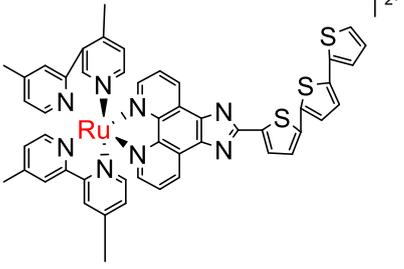
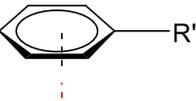
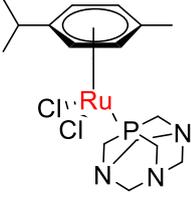
Ión Metálico	Ligando	Complejo Metálico
Ru(II)	Dimetilsulfóxido 	
Ru(II)	Indazol 	
Ru(III)	Polipiridina 	
Ru(III)	Areno 	

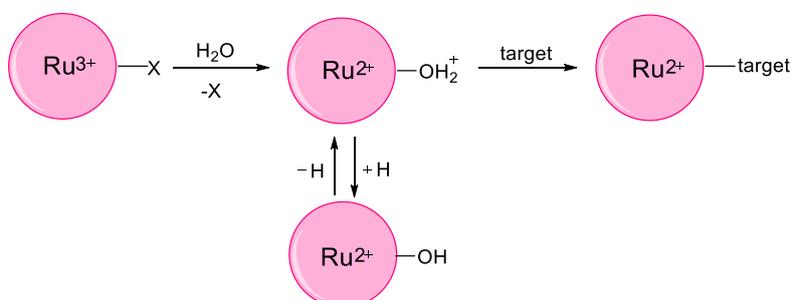
Tabla 1. Ejemplos de ligandos usados en complejos de rutenio.

4.2. Complejos de rutenio (III)

Los complejos de Ru(III) son una serie de compuestos que generalmente realizan la función de profármacos. Presentan la capacidad de imitar al hierro (III) en la unión con transferrina sérica y albúmina, con lo cual estos compuestos se pueden administrar y van vehiculizados en estas proteínas (Pal et al., 2018). Posteriormente, el complejo formado por el fármaco y la transferrina llega a la superficie de las células cancerosas,

donde su presencia es de 2 a 12 veces mayor que en la superficie de las células sanas. Esto se debe a que las células cancerosas se dividen más rápidamente y por lo tanto necesitan un mayor aporte de hierro.

Una vez en el lugar de acción, el complejo de Ru(III) se reduce a Ru(II) debido al microambiente canceroso, donde el pH es más ácido, hay menos cantidad de oxígeno y/o hay mayores niveles de glutatión. La reducción del rutenio disminuye la capacidad de aceptación de electrones π del metal, lo que hace que los ligandos donadores de electrones π , como son los cloruros, se debiliten y sean fácilmente hidrolizables, consiguiendo así activar el profármaco (Meier-Menches et al., 2018) (esquema 1).



Esquema 1. Activación del complejo de Ru(III) como profármaco.

A continuación describiremos de forma detallada las principales estructuras de los complejos de este tipo que han sido desarrolladas clínicamente y comentaremos los resultados obtenidos.

4.2.1. Complejo NAMI-A

El complejo NAMI-A o *trans*-(imidazol-dimetilsulfoxido)tetraclororutenato (III) de imidazolio (4) (figura 3), fue el primer complejo de rutenio en pasar a estudios clínicos. En 1975 se obtuvieron los primeros resultados de los estudios del complejo de Rutenio (II) [Ru(II)Cl₂(DMSO)₄] que serviría de base para el desarrollo posterior de NAMI-A.

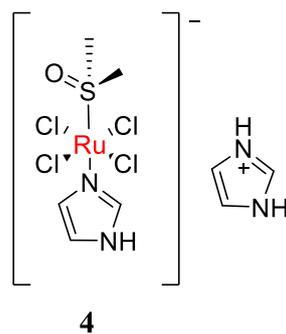


Figura 3. Estructura del complejo NAMI-A.

Varios años más tarde y tras varias investigaciones, se demostró sobre un modelo de metástasis de pulmón, que el isómero *trans* tenía mayor actividad que el isómero *cis* y que este complejo no tenía un efecto significativo sobre el tumor primario, pero sí sobre la reducción de volumen de las metástasis pulmonares. Después de una optimización del compuesto, se llegó a la estructura de lo que hoy se conoce como NAMI-A. El complejo optimizado mostró mayor estabilidad, solubilidad e inhibición efectiva de la formación de metástasis espontánea así como de la progresión de las ya existentes. Debido al efecto que ejerce el DMSO sobre el potencial de reducción del rutenio y a las propiedadesceptoras de electrones π del S sulfinílico, la hidrólisis de los ligandos de NAMI-A en medios biológicos aumenta y así puede activarse. El mecanismo de acción del complejo no está del todo claro, parece que intervienen diversos factores, como son: (i) La interacción con el ciclo celular; (ii) inhibición de las metaloproteinasas de matriz o (iii) la unión con ácidos nucleicos afectando directamente al ADN de las células cancerosas (Antonarakis & Emadi, 2010).

Con todos estos resultados tan prometedores, el complejo ingresó en ensayos clínicos en 1999 y fue en 2004 cuando se completaron los estudios de fase I. En la siguiente subfase del estudio clínico (fase I/II), el compuesto se investigó como un tratamiento combinado con gemcitabina para el cáncer de pulmón no microcítico, pero los resultados no fueron los esperados al comprobar que no se detenía la enfermedad. La combinación de fármacos era menos efectiva que la monoterapia con gemcitabina, empeorando la calidad de vida de los pacientes con numerosos efectos adversos, por lo que NAMI-A abandonó los ensayos clínicos (Rademaker-Lakhai et al., 2004).

4.2.2. Complejos KP1019/ NKP1339

El complejo KP1019 o [*trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] de indazolio] (5) (figura 4), es un complejo de rutenio (III) desarrollado por Keppler et al. que contiene dos heterociclos de indazol coordinados al centro metálico a través de los átomos de nitrógeno de la posición 2.

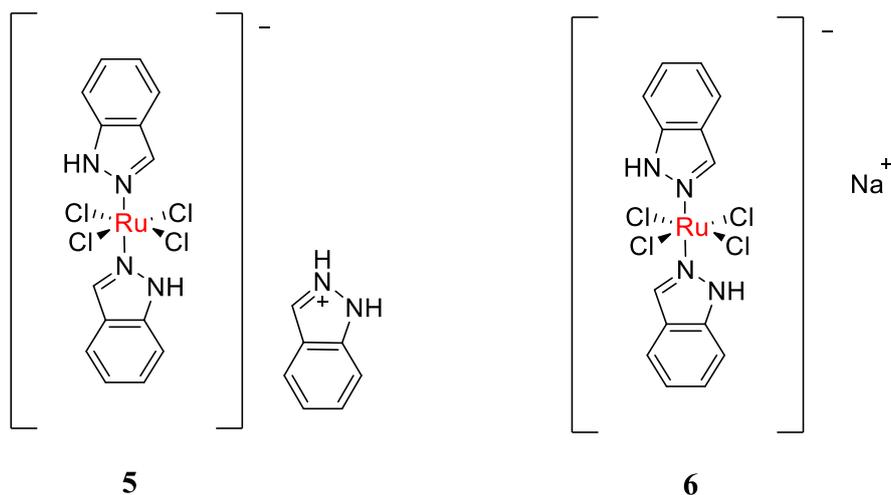


Figura 4. KP1019 (5) y NKP1339 (6).

Este complejo fue el segundo agente a base de rutenio que se probó en humanos y que superó la fase I de los estudios clínicos. KP1019 muestra una actividad citotóxica directa, promoviendo la apoptosis en numerosas líneas celulares de cáncer, así como en diferentes modelos de tumores, especialmente cánceres colorrectales. El mecanismo de acción de este compuesto, no está bien definido y parece involucrar junto con las etapas comentadas anteriormente para los complejos de rutenio (III), como son la unión a la transferrina y la activación por reducción a rutenio (II), otros mecanismos diferentes a los anteriormente vistos para NAMI-A. Los resultados obtenidos parecen indicar que las mitocondrias son la principal diana de este complejo en lugar del ADN. Las mitocondrias como diana terapéutica, son una interesante propuesta, ya que bajo ciertas condiciones celulares, liberan moléculas que activan las vías apoptóticas extrínsecas e intrínsecas, ya que los complejos de rutenio pueden disminuir rápidamente el potencial de membrana de las mitocondrias. Este efecto promueve la expresión de genes proapoptóticos de la familia de Bcl-2, liberando citocromo c y activando reacciones en cascada que harán que las células tumorales sufran la muerte celular programada. Este compuesto completó en 2006 un estudio preliminar de fase-I con prometedores

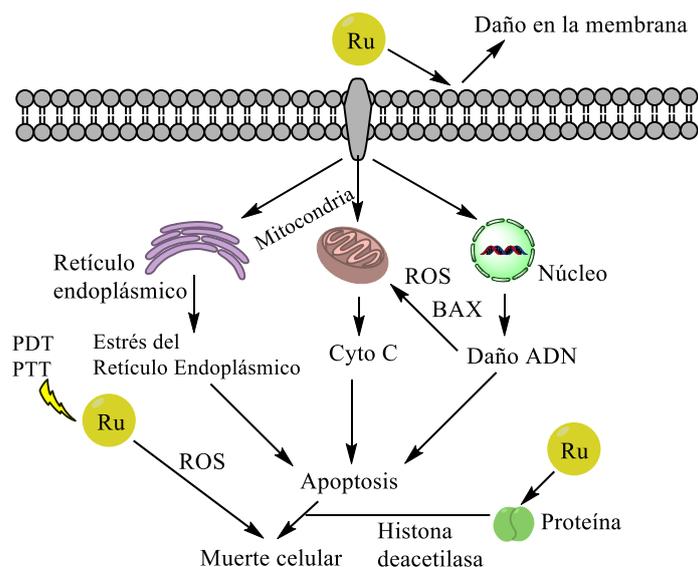
resultados pero no consiguió avanzar debido a un problema de solubilidad importante. La solución a este problema fue la síntesis la sal de sodio soluble, NKP1339 (6) (figura 4).

Este nuevo complejo posee una solubilidad 30 veces superior a la de su predecesor, gracias al simple intercambio del catión indazol por el catión sodio. NKP1339 se encuentra actualmente en estudios clínicos de fase I/II (Wan et al., 2017).

4.3. Complejos de rutenio (II)

Los complejos de rutenio (II) poseen ligandos y estructuras muy diversas y en consecuencia presentan diferentes mecanismos de acción y distintas dianas terapéuticas. Los últimos avances en nuevas tecnologías, como la terapia fotodinámica (PDT) y los nanomateriales han permitido preparar complejos bioactivos de rutenio (II) con propiedades fotofísicas, mejorando su eficacia y selectividad en el organismo (Kenny & Marmion, 2019). Un problema que presentan los complejos de rutenio (II), a diferencia de los complejos con estado de oxidación +3, está relacionado con la administración y la captación celular, impulsando el estudio de los diferentes mecanismos por los que pueden entrar en las células diana: difusión pasiva, difusión facilitada, transporte activo y endocitosis. Teniendo en cuenta que la hidrofobicidad y los intercambios de ligandos pueden modular la captación y localización celular de los complejos, se ha estudiado la distribución intracelular de éstos en base a la variación de: (i) la hidrofobicidad de los ligandos, su estructura y tamaño, (ii) el coeficiente de partición octanol/agua, (iii) la carga de los complejos y (iv) la naturaleza del contraión (Poynton et al., 2017).

A continuación detallaremos los mecanismos de acción y las dianas a las que se dirigen los principales complejos de rutenio (II) (esquema 2).



Esquema 2. Mecanismos de acción de los complejos de rutenio (II).

4.3.1. Complejos de rutenio (II) con ligandos polipiridina

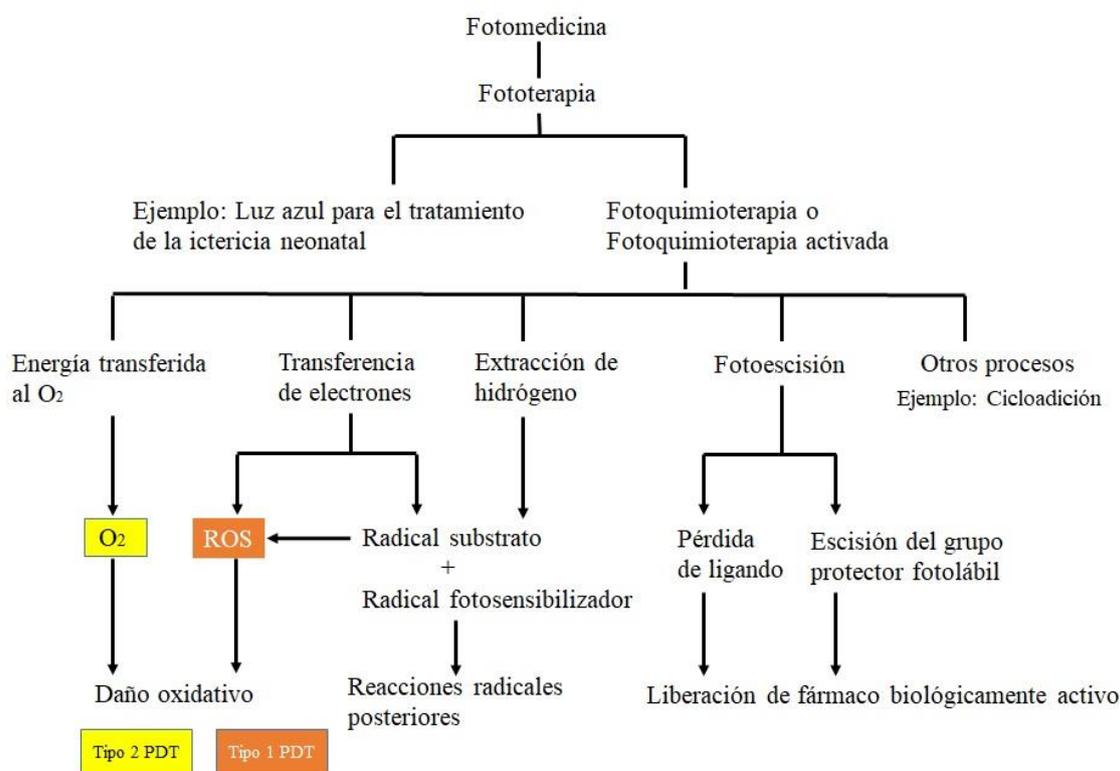
Los complejos de Ru(II) con ligandos polipiridina en su mayoría poseen una excelente reactividad, capacidad para actuar como agentes de imagen y química redox, lo que los convierte en potenciales fármacos para el diagnóstico y la terapia del cáncer. Estos agentes pueden actuar de manera reversible como sondas o como inhibidores de importantes moléculas biológicas, como pueden ser ADN, ARN o las proteínas. En general poseen propiedades fotofísicas y fototérmicas que los hacen fotoestables frente a la absorción de fotones, posibilitando su utilización para la terapia fotodinámica contra el cáncer, así como para la fotoquimioterapia activada (Fong et al., 2015). La terapia fotodinámica, es una técnica mínimamente invasiva, cuya eficacia depende de tres parámetros: el fotosensibilizador, la intensidad de luz y oxígeno y la densidad de energía.

El principio de esta técnica consiste en la administración local o sistémica de un fotosensibilizador que idealmente se acumulará en el tejido objetivo, que posteriormente se irradiará con luz a una longitud de onda específica y hará que se generen especies reactivas de oxígeno a través de reacciones fotoquímicas que pueden ser de dos tipos:

- Tipo I: El estado triplete del fotosensibilizador transfiere directamente un electrón a $^3\text{O}_2$ (u otra especie que contiene oxígeno y genera iones radicales).

- Tipo II: El estado excitado del fotosensibilizador reacciona con el oxígeno molecular, $^3\text{O}_2$, a través de una transferencia de energía en el estado excitado para generar oxígeno singlete altamente reactivo, $^1\text{O}_2$ (Hess et al., 2017).

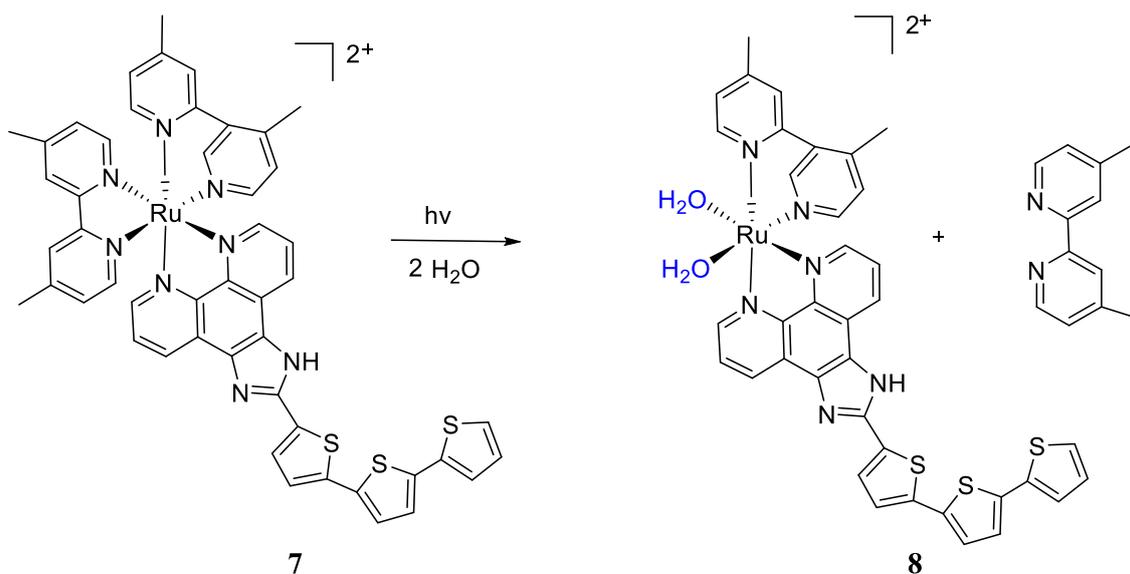
Como resultado, provocarán la muerte celular mediante apoptosis, con un daño mínimo en los tejidos normales. Controlar la difusión de las especies reactivas de oxígeno y otros radicales generados, así como la concentración de fotosensibilizador y su localización, son aspectos importantes para establecer un buen control sobre el tumor (Fong et al., 2015).



Esquema 3.Desarrollo de la fototerapia.

4.3.1.1. Complejo TLD-1433

El complejo TLD-1433 fue el primer fotosensibilizador basado en Ru(II) para terapia fotodinámica en ingresar en ensayos clínicos en humanos para el tratamiento del cáncer de vejiga muscular no invasivo y aún continúa en fase clínica en tales ensayos.



Esquema 4. Activación del complejo TLD1433 (7).

En este caso en particular, se ha demostrado que TLD1433 puede actuar de un modo tanto dependiente (PDT), como independiente de oxígeno, es decir, no depende de la generación de ROS para ejercer su actividad antitumoral. Este hecho resulta de sumo interés para este tipo de compuestos, ya que a menudo los tumores crean un microambiente hipóxico y se ha demostrado que limita la acción de estos agentes. El mecanismo consiste en la pérdida de un ligando, fotoinducida con luz visible en agua, que hace que se active el complejo y forme uniones covalentes con Guanosina monofosfato (GMP), a través de la sustitución de los enlaces lábiles Ru-OH_2 (esquema 4).

Cuando este complejo se incubó *in vitro* con la glicoproteína transferrina, se observó una mejora en la acumulación del fármaco en las células cancerosas, ya que las células malignas tienden a sobreexpresar el receptor de transferrina. Además, los estudios *in vivo* en ratones mostraron que el complejo entre TLD1433 y la transferrina es menos tóxico y muestra una actividad PDT mejorada, en comparación con el compuesto solo (Yin et al., 2017).

A la vista de estos buenos resultados, son varias las patentes que han aparecido con el uso de transferrina y otras glicoproteínas con complejos de coordinación metálicos para su uso como agentes antitumorales.

4.3.2. Complejos de rutenio (II) con ligandos areno

Los complejos de Ru(II) y arenos son conocidos también como “*piano stool*” y tienen la fórmula general [(Z6-areno)Ru(X)(Y)(Z)] (**9**), como podemos ver en la figura 5.

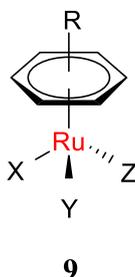


Figura 5. Estructura general de un complejo de rutenio areno.

Los ligandos X e Y pueden ser dos ligandos monodentados o uno bidentado y el ligando Z actúa normalmente como un grupo saliente. Los anillos de areno pueden ser de diversa naturaleza, incluyendo benceno, bifenilo o dihidroantraceno, entre otros. Este grupo areno determina la distribución de electrones del complejo de Ru(II), influyendo en la estabilidad del mismo, además de facilitar la entrada de estos agentes en las células debido a la hidrofobicidad de estos anillos. La facilidad de hidrólisis de los enlaces Ru-Z se ve afectada por el pH y la concentración del ligando Z en el medio. La solubilidad en agua y el volumen del ligando quelante y del grupo saliente también pueden afectar a la eficacia de estos agentes (Zeng et al., 2017).

4.3.2.1. Complejos RAPTA

Los compuestos RAPTA tienen la fórmula general [(Z6-areno) Ru(X)(Y)(pta)] (figura 6), donde X e Y son cloruros normalmente, y el pta es el ligando de fosfato monodentado, 1,3,5-triaza-7-fosfaadamantano, que tiene una buena solubilidad acuosa y se encuentra preferentemente protonado a un pH bajo.

Dyson introdujo como primer compuesto de esta familia el llamado RAPTA-C (**11**) (figura 6), donde el grupo areno es un Z6-p-cimeno, observando que el fármaco se activaba en medio ligeramente ácido y reconociendo esto como una posible estrategia para el direccionamiento de agentes antitumorales hacia tejidos con microambiente hipóxico propio de las células cancerosas.

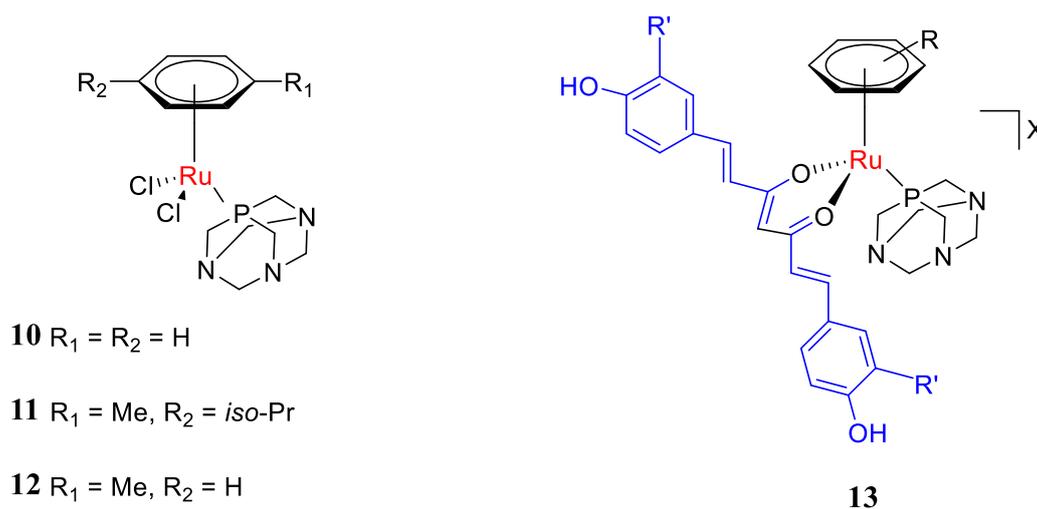


Figura 6. Rapta B (**10**), Rapta C (**11**), Rapta T (**12**) y complejo Rapta de 2ª generación (**13**).

RAPTA-T (**12**) (figura 6) (donde el grupo areno es Z6-tolueno) fue otro prometedor complejo organometálico, que como sus análogos, necesitaba para su actividad de una hidrólisis de los ligandos cloruros, dependiente de pH y de la cantidad de cloruro presente en la solución. Se pudo comprobar que la hidrólisis era relativamente rápida, siendo necesario retardarla para que los ligandos resistieran un tiempo suficiente para llegar al lugar de acción, y para ello se prepararon derivados de RAPTA de segunda generación (**13**) (figura 6) que resisten mejor a dicha hidrólisis.

Estos compuestos tienen un derivado dicarboxílico bidentado como grupo saliente, en lugar de los ligandos de cloruro, consiguiendo así que complejos de segunda generación tengan una cinética más lenta. Aunque los primeros estudios sobre el modo de acción de los complejos RAPTA apuntaban al ADN como diana, se pudo comprobar que RAPTA-C interactúa con las proteínas histonas formando aductos proteína-Ru(II), lo que sirvió de base para plantear la hipótesis de que estas interacciones con las histonas eran fundamentales en la eficacia del complejo. Se descubrió también que los derivados de RAPTA inhibían la actividad de glutatión transferasa, lisozimas, catepsina B y TrxR entre otras enzimas (Zeng et al., 2017).

Teniendo en cuenta todas estas evidencias, hasta ahora no ha sido posible definir un único modo de acción de los compuestos RAPTA, ya que reaccionan tanto con el ADN, como con diferentes proteínas.

4.3.2.2. Complejos RM175 / ONCO4417

Sadler introdujo un nuevo tipo de agente organometálico donde se coordinaba un grupo etilendiamina y un grupo saliente como es el cloro, con el núcleo de metal, que se coordina a su vez con un grupo areno sustituido. Se trata de un complejo catiónico donde el contraión puede tener diferente naturaleza (figura 7).

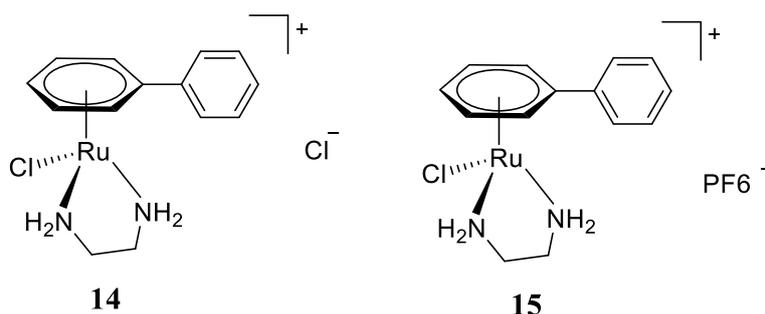


Figura 7. RM175 (**14**) y ONCO4417 (**15**).

Se ha propuesto el ADN de las células tumorales como principal diana terapéutica, activándose el complejo mediante la hidrólisis del enlace Ru-Cl y siendo el resto areno hidrófobo responsable de que la molécula atraviese las membranas celulares y se intercale en el ADN (Flamme, 2018).

Son varios los sitios de unión de los nucleósidos que reaccionan con estos complejos de Ru(II), siguiendo el orden de reactividad: guanósina-N7 > timidina-N3 > adenosina N7/N1. La unión con guanósina N7 se refuerza mediante la unión por puentes de hidrógeno entre la etilendiamina y los oxígenos exocíclicos. Se descubrió también que RM175 en presencia de GSH (detoxicador de metales y agente reductor celular), formaba un aducto transitorio GSH-Ru(II) coordinado por el azufre S, que se oxidaba fácilmente permitiendo la formación del aducto entre guanina-N7 y el Ru(II) que es termodinámicamente estable (Meier-Menches et al., 2018).

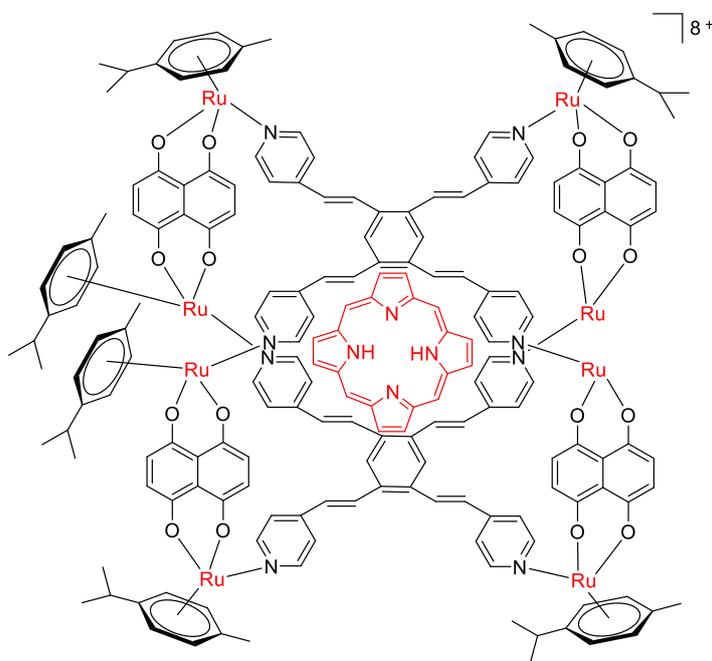
Si sustituimos el anión hexafluorofosfato por un anión cloruro, obtenemos otra sal de rutenio llamada ONCO4417 (**15**) (figura 7). Este agente como su análogo RM175 (**14**) (figura 7), posee actividades antineoplásicas como resultado de su interacción con el ADN, pero también induce la apoptosis de las células cancerosas. Ambos compuestos

son muy similares en cuanto a estructura y a mecanismo de acción, hasta el momento estudiado únicamente in vitro (Aird et al., 2002).

4.3.2.3. Complejos areno multinucleares

Con la introducción de ligandos con múltiples sitios de unión, aparecen los llamados complejos multinucleares, que principalmente contienen derivados di-, tri-, tetra- o hexa-nucleares, entre otros. Cabe destacar que los complejos multinucleares de areno-Ru(II) presentan una gran variedad de efectos biológicos significativos debido a las modificaciones estructurales con respecto a los compuestos de areno vistos anteriormente. Se comprobó que los compuestos dinucleares se hidrolizaban rápidamente e interactuaban con la transferrina y además formaban enlaces cruzados en el ADN, entre otras acciones, involucrando así tanto a las proteínas como al ADN como diana terapéutica.

El autoensamblado supramolecular, que es la asociación espontánea de varios restos que en condiciones de equilibrio forman agregados estables mediante interacciones covalentes o no covalentes, forma compuestos con cargas elevadas, buena solubilidad y un gran espacio capaz de encapsular moléculas huésped.



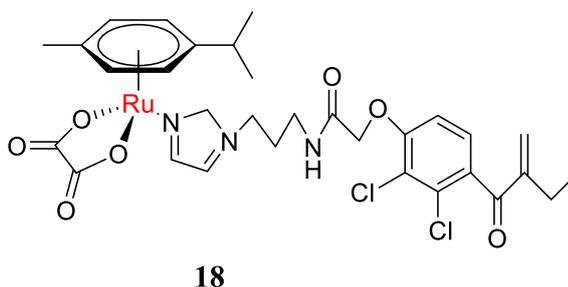
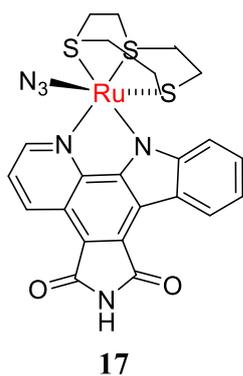
16

Figura 8. Ejemplo de complejo de rutenio “jaula”.

Estos agentes forman estructuras bidimensionales y tridimensionales como las llamadas “jaulas” (**16**) (figura 8), que hacen que este tipo de complejos puedan servir como vectores en la administración de medicamentos y ayudar en el control de la liberación, convirtiéndose en una herramienta muy útil para el diseño de fármacos nuevos y más eficaces (Zeng et al., 2017).

4.3.3. Complejos de rutenio (II) como inhibidores de proteínas

El descubrimiento de los inhibidores selectivos de enzimas fue un importante hallazgo para el avance de las terapias antitumorales con compuestos organometálicos. Las proteínas quinasas regulan la mayoría de los aspectos de los procesos celulares y muchas de estas proteínas quinasas están asociadas con numerosos cánceres humanos, y por lo tanto, el diseño de fármacos que perturben el funcionamiento de proteínas específicas que actúan en beneficio de las células cancerosas, es un aspecto importante a tener en cuenta para el desarrollo de fármacos eficaces. Inicialmente Dwyer et al, diseñaron unos complejos de Ru(II) que actuaban como inhibidores de AchE por interacciones electrostáticas e hidrófobas entre estos agentes y el sitio aniónico periférico de AchE (Meggers et al., 2007). En años posteriores se han desarrollado numerosos agentes terapéuticos que actúan como inhibidores de proteínas quinasas tales como GSK3, Pimp1, MSK-1, AchE o GST (figura 9).



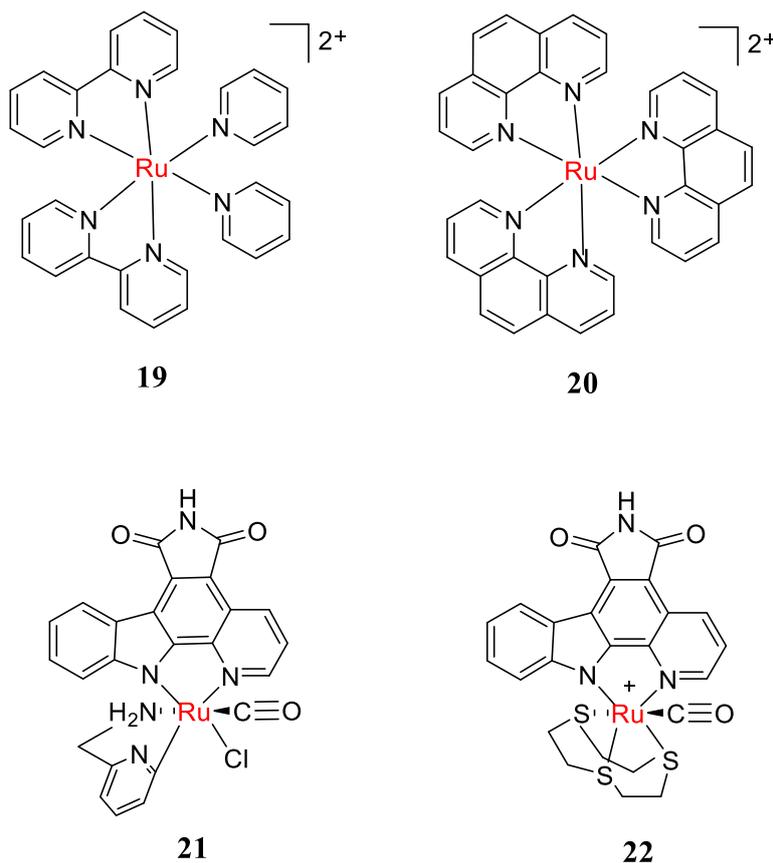
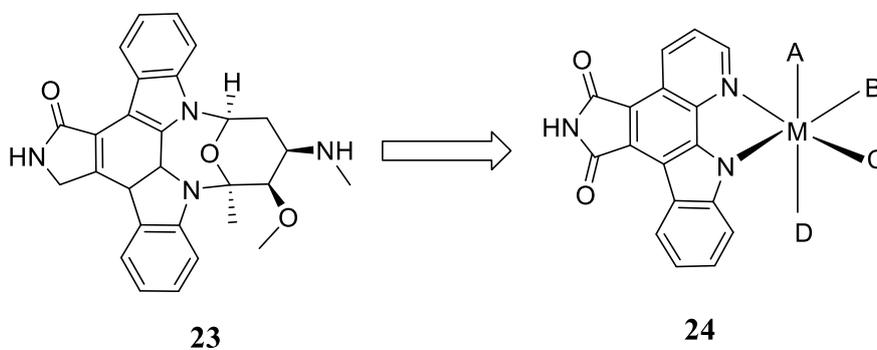


Figura 9. Ejemplos de inhibidores de PK.

Como puede observarse en la figura 9, varios de estos complejos presentan un ligando común con estructura derivada de la estaurosporina, un producto orgánico natural aislado originalmente de la bacteria *Streptomyces staurosporeus*. La estaurosporina es un potente inhibidor competitivo de la unión de ATP con la proteína quinasa, debido a que presenta una afinidad superior al sitio de unión del ATP en la quinasa, y teniendo en cuenta su estructura, se desarrollaron toda una serie de complejos de rutenio como inhibidores de Pimp1, MSK-1 y GSK-3 (esquema 5).



Esquema 5. Ejemplo de diseño de inhibidores de PK(24) a partir de estaurosporina(23).

En estos complejos se verificó que el rutenio sólo poseía un papel estructural, ya que no participaba en la unión con el sitio activo del ATP, controlando solo la orientación de los ligandos orgánicos y produciendo estructuras que son complementarias al sitio activo de las enzimas.

Dyson et al, también diseñaron unos inhibidores de Glutación-S-transferasa (GST) que eran activos en diferentes líneas celulares resistentes a cisplatino. Aún no se han realizado estudios *in vivo* con este grupo de fármacos, que podrían ser el futuro de la terapia antitumoral organometálica a base de rutenio (Zeng et al., 2017).

4.3.3.1. Complejos DW1/2

Este compuesto es un inhibidor de la conocida glucógeno sintasa quinasa 3 (GSK-3) y un potente activador del gen p53, con lo cual, induce apoptosis mediada por este gen, a través de la vía mitocondrial intrínseca, con la respectiva regulación negativa de mdm2 y mdm4 en células de melanoma altamente quimiorresistentes, según estudios *in vitro* realizados sobre ese tipo de cáncer (Smalley et al., 2007). La inactivación de la vía dependiente de p53 es un proceso clave en la iniciación y progresión del tumor. La pérdida de la actividad de p53 es un mecanismo importante a través del cual los tumores se vuelven resistentes a la apoptosis, no controlan su microambiente local y se vuelven insensibles a muchos tipos de intervenciones terapéuticas. La mayoría de los cánceres tienen mutaciones puntuales en p53, y a menudo se encuentran en el centro de la proteína responsable de la unión al ADN.

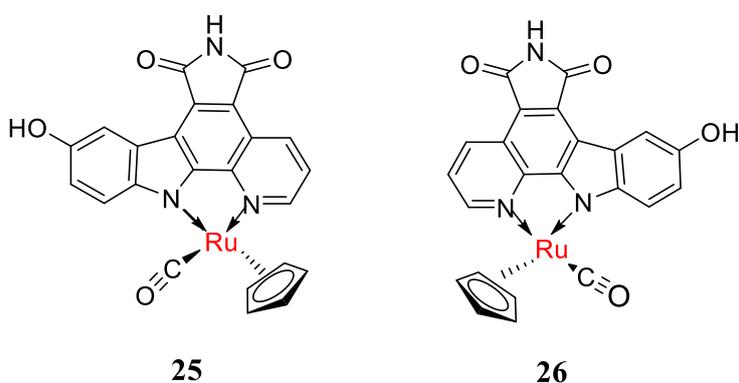


Figura 10. Enantiómeros de DW1/2, R (**25**) y S (**26**).

Las estructuras de los enantiómeros *R* (**25**) y *S* (**26**) (figura 10) del complejo racémico DW1/2 muestran también actividad contra la proteína quinasa humana Pim-1 y

claramente pone de manifiesto, que el centro metálico no está involucrado en ninguna interacción directa con el centro activo de dicha proteína, pero si muestra el control sobre la orientación de los ligandos del compuesto en el espacio del receptor, siendo preferente la actividad del enantiómero S (**26**) (figura 10) sobre la proteína Pimp-1.

Es muy importante controlar la expresión de Pimp-1, ya que es un protooncogén y aumenta la mitogénesis celular y la supervivencia independientemente de la estimulación del factor de crecimiento, entre otras acciones que beneficiarían a las células tumorales. Por tanto, dirigirse a esta familia de quinasas, es una estrategia que abriría un camino nuevo hacia la batalla contra el cáncer (Debreczeni et al., 2006).

4.3.4. Sistemas de nanomateriales basados en rutenio (II).

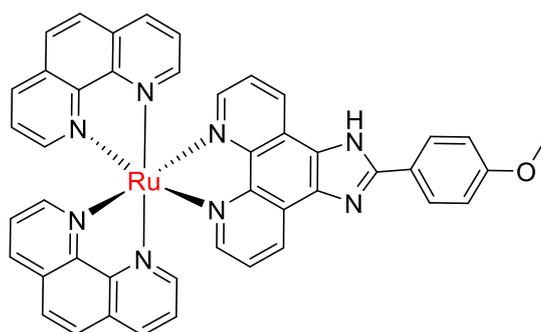
Las características de los complejos de rutenio hacen de éstos unos fármacos que a veces son difíciles de administrar, ya que no llegan direccionados hacia la diana terapéutica, o no lo hacen con la suficiente biodisponibilidad. Por ello, en los últimos años se ha estado trabajando para solventar este tipo de problemas de administración. Con la llegada de los nanomateriales para encapsular fármacos, se abrió un gran camino en el correcto suministro de agentes terapéuticos que pudieran ejercer la acción direccionada, disminuyendo los efectos secundarios y aumentando la eficacia, mejorando significativamente la farmacocinética, solubilidad, toxicidad y biodistribución en comparación con los fármacos administrados libremente (Jiang et al., 2012). Se ha demostrado que los complejos de Ru(II) encapsulados en nanosistemas, una vez administrados en el torrente sanguíneo, mejoran su direccionalidad y se acumulan preferentemente en tumores sólidos, debido al efecto de la permeación y retención (EPR).

Los complejos de Ru(II) en los nanosistemas realizan cuatro funciones principalmente: (i) Controlar la liberación del fármaco con la mayor eficiencia, (ii) Trabajar como fármacos o catalizadores en estos sistemas, (iii) Mejorar la eficacia fototérmica y la estabilidad de los nanomateriales y (iv) Actuar como herramientas en el rastreo de estos nanomateriales a través de imágenes de luminiscencia (Zeng et al., 2017).

A continuación comentaremos brevemente algunos de los principales nanosistemas de Ru(II), como pueden ser las nanopartículas a base de selenio, oro, sílice o nanotubos de carbono, entre otros.

4.3.4.1. Nanopartículas de selenio.

Las características propias del selenio, como es la biocompatibilidad, su rápida degradación, fácil síntesis y baja toxicidad, han hecho de éste uno de los elementos más usados para la administración de fármacos. En el caso concreto de los complejos de Ru(II), se han utilizado varios sistemas de nanopartículas para administrar estos agentes terapéuticos, un ejemplo de éstos es el llamado RuPOP (**27**) (figura 11). Este compuesto es un complejo de Ru(II) con ligandos polipiridina, que demostró eficacia anticancerígena, pero su uso fué limitado ya que poseía problemas de solubilidad importantes. En la investigación para el desarrollo de sistemas para poder transportar fármacos de una manera eficaz en el organismo, surgió un sistema transportador basado en un mecanismo propio de muchos tipos de tumores, como es el aumento de los receptores de folato, ya que las células cancerígenas necesitan mayor cantidad de folato para fomentar su crecimiento.



27

Figura 11. Complejo RuPOP (**27**).

Por tanto si se conseguía que el fármaco viajara con el folato, se concentraría en las células cancerosas y no en las células sanas, debido al proceso antes mencionado. Se desarrolló entonces un grupo de copolímeros y así surgió el sistema FA-SeNPs, que entra en las células por endocitosis y libera el fármaco RuPOP en condiciones ácidas según ensayos in vitro (Liu et al., 2015).

4.3.4.2. Nanopartículas de oro.

Las nanopartículas de oro son uno de los tipos de nanopartículas más ampliamente exploradas debido a su baja toxicidad y su buena biocompatibilidad. Entre los sistemas de nanopartículas de oro que vehiculizan complejos de Ru(II) destinados a la terapia fototérmica encontramos el llamado, Ru@AuNPs, que convierte la luz del infrarojo

cercano (NIR) en calor con una alta eficiencia y mejora la absorción de las nanopartículas en el infrarrojo cercano

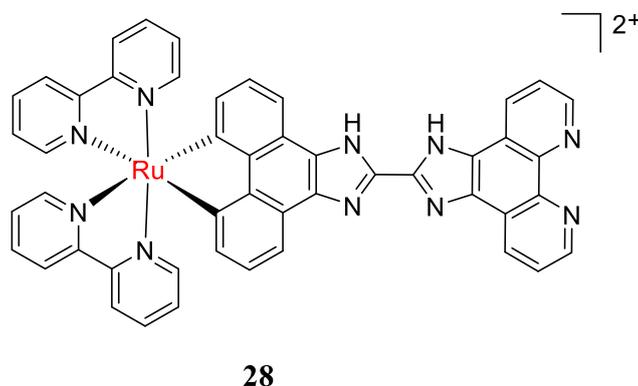
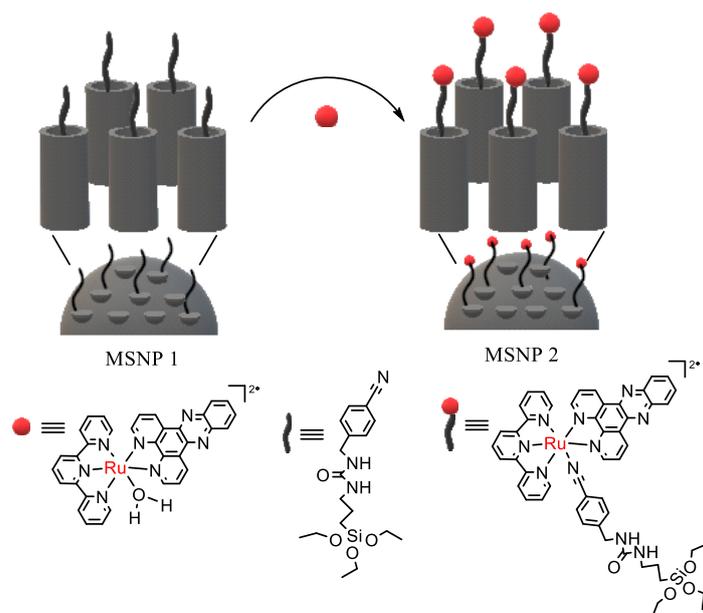


Figura 12. Ejemplo de complejo de Ru (II) de Ru@AuNPS.

Se demostró en experimentos *in vivo* que Ru@AuNPS, bajo irradiación con láser de diodo, redujo significativamente el tumor sobre el que se aplicaba. El estudio que se realizó sobre estos compuestos (**28**) (figura 12) demuestra, que el acoplamiento de los complejos de Ru(II) con ligandos de polipiridina inertes a las nanoesferas de oro, solucionó los problemas de absorbancia de NIR y la baja fotoestabilidad, así como la mejora de la luminiscencia de dos fotones, típicas de las nanopartículas de oro en la terapia fototérmica (Zhang et al., 2015). Este tipo de nanopartículas junto con los complejos de Ru(II) con ligandos de polipiridina, prometen un gran futuro como agentes antitumorales en la terapia fototérmica.

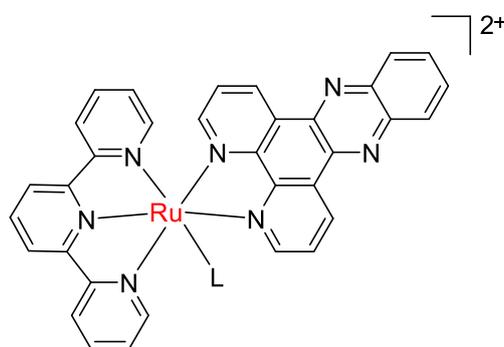
4.3.4.3. Nanopartículas de sílice.

Las nanopartículas de sílice son inocuas para las células y pueden sufrir captación celular en liposomas ácidos por endocitosis, lo que las lleva a ser unas prometedoras nanopartículas para formar parte de un sistema de administración de medicamentos. Tienen la capacidad de liberar un fármaco en condiciones específicas, como cambios de pH, señales fotónicas, activaciones redox o activaciones biológicas.



Esquema 6. Ejemplo de nanosistema de rutenio-sílice.

Frasconi et al. desarrollaron nanopartículas de rutenio-sílice, mediante el injerto de la superficie de nanopartículas de sílice mesoporosa (MSNP) con complejos de rutenio (II) fotoactivables. Se coordina el complejo de Ru(II) con un ligando monodentado y bajo irradiación con luz visible, el complejo se puede liberar de la superficie mediante la sustitución selectiva de este ligando por una molécula de agua, quedando activado el complejo de Ru para formar aductos con el ADN (esquema 6). La principal fuerza detrás de la intercalación de estos compuestos con el ADN probablemente, sean las interacciones entre los anillos de pirazina del ligando dppz del complejo de rutenio fotoactivable y el par de bases del dúplex del ADN (Frasconi et al., 2013).



29

Figura 13. Ejemplo de complejo de rutenio utilizado en nanosistemas de sílice.

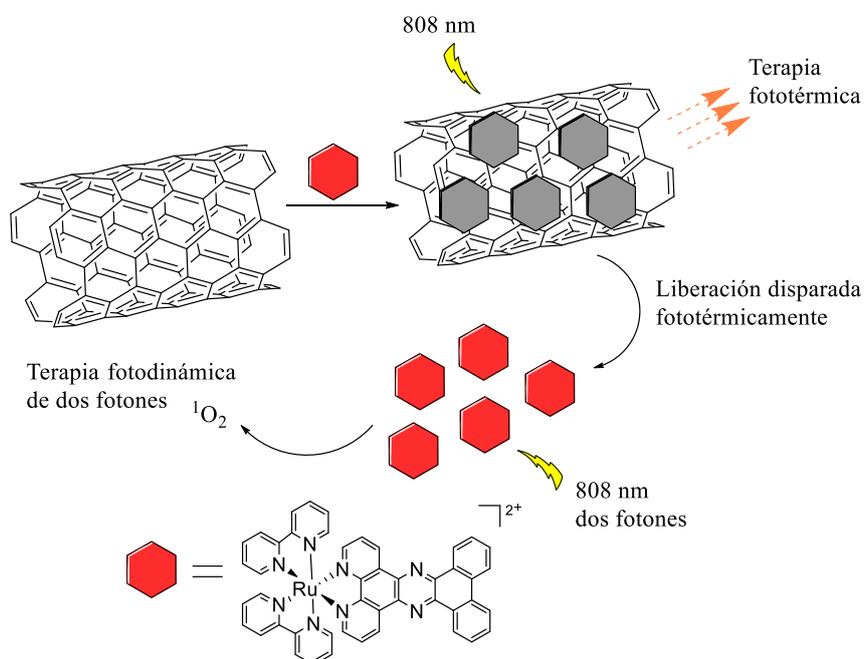
Knežević et al. usaron nanopartículas porosas de silicio multifuncionales (pSiNPs) para administrar otro complejo de rutenio fotosensible para PDT. Además, agregaron a las superficies de las nanopartículas polietilenglicol, que mejora la biocompatibilidad y la dispersabilidad de este sistema (Knežević et al., 2016). Otro avance sobre las nanopartículas de sílice fue añadir a la superficie de éstas el péptido RGD (arginina-glicina-ácido aspártico), un agente de direccionamiento que podría ser reconocido por el receptor de integrina sobreexpresado en varias células cancerosas, lo que ayudaría a aumentar la citotoxicidad selectiva para este tipo de células y aumentar las ROS, que conducirían a la apoptosis de las células tumorales mediante las vías de señalización MAPK y AKT (He et al., 2014).

4.3.4.4. Nanotubos de Carbono.

Los nanotubos de carbono son unas estructuras constituidas por láminas de grafeno enrolladas que pueden ser, de pared simple o múltiple. Los nanotubos de carbono de pared simple, o SWNT, constan de una única lámina de grafeno envuelta en un tubo cilíndrico. Los nanotubos de carbono de paredes múltiples, o MWCNT, contienen varias láminas de grafeno envueltas formando múltiples tubos concéntricos de diferentes diámetros. Originalmente los nanotubos de carbono presentaban un problema como transportadores de fármacos debido a su baja solubilidad en todo tipo de disolventes, lo que le confería una dificultad para su administración biológica. Afortunadamente este problema se solventa con diferentes modificaciones, como puede ser generar grupos carboxílicos mediante una oxidación fuerte o realizar reacciones de adición a las paredes y a los extremos de los nanotubos para hacerlos solubles en agua y en fluidos biológicos (Bianco et al., 2005). Con el problema de la biocompatibilidad solventado, los nanotubos de carbono son una apuesta prometedora para vehicular fármacos, ya que además, pueden absorber la luz en la región infrarroja cercana como fotosensibilizadores y pueden destruir las células tumorales mediante efectos fototérmicos.

Wang et al. estudiaron la posibilidad de encapsular un complejo de rutenio fotosensible como RuPOP en un sistema de nanotubos de carbono, como posible estrategia para atacar el cáncer de hígado que se caracteriza por ser especialmente farmacoresistente. En este estudio se vio que el nanosistema creado, llamado RuPOP@MWCNTs, mejora significativamente la eficacia contra el cáncer provocado por los rayos X utilizados clínicamente en las células cancerosas, a través de la inducción de la apoptosis y la detención

del ciclo celular. Además, el nanosistema redujo los efectos secundarios del fármaco vehiculizado y prolongó su circulación sanguínea in vivo (Wang et al., 2015).



Esquema 7. Ejemplo de nanosistema de rutenio y carbono usado en terapia fototérmica y terapia fotodinámica de dos fotones.

En otro estudio novedoso, Zhang et al. usaron nanotubos de carbono de pared simple funcionalizados con complejos de Ru (II) para terapia fototérmica y fotodinámica de dos fotones, los resultados fueron mejores al combinar de ambas terapias, que para cada una por separado. El efecto fototérmico desencadena la liberación del complejo de Ru(II) y éste produce ROS sobre la irradiación láser de dos fotones (esquema 7).

Esta combinación de técnicas abre una ventana terapéutica que ofrece nuevas perspectivas para el tratamiento del cáncer (Zhang et al., 2015).

5. CONCLUSIONES

En este trabajo se ha realizado una revisión de la evolución y el desarrollo de los complejos metálicos de rutenio como agentes antitumorales. Debido a las numerosas publicaciones en este campo, nos hemos centrado en los trabajos mas recientes, con el objetivo de presentar una visión general y actual de las diferentes estrategias que se usan para el desarrollo de nuevos complejos cada vez más eficaces y seguros. El trabajo desarrollado ha puesto de manifiesto las ventajas del uso del rutenio en la terapia antitumoral organometálica, debido a

sus mejoras en efectividad y toxicidad, en comparación con el metal más usado hasta la fecha en este tipo de terapias, el platino.

Por un lado, nos hemos centrado en el estudio de los complejos de rutenio en función de sus principales estados de oxidación, 2+ y 3+, siendo el estado de oxidación más bajo el más desarrollado, debido a su mayor actividad y a las diferentes modificaciones que se han llevado a cabo en la naturaleza de sus variados ligandos. También hemos querido aportar una perspectiva de futuro con el uso de los complejos de rutenio (II) en el ámbito de la nanotecnología, que cada vez está más presente en nuestras vidas. Con el uso de los nanosistemas, se está logrando la vectorización de los fármacos, consiguiendo una mejora de la efectividad y la disminución de los efectos secundarios.

Sin embargo, a pesar de todos estos avances, sólo un número reducido de complejos han llegado a ensayos clínicos, y queda mucho por mejorar en cuanto a actividad *in vitro* se refiere. Queda aún un importante trabajo de investigación por realizar para conseguir desarrollar nuevos derivados organometálicos que consigan erradicar totalmente el problema del cáncer. No obstante, los avances conseguidos hasta la fecha constituyen un gran aporte de esperanza en el desarrollo de nuevos fármacos cada vez más específicos, eficaces y seguros.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Aird RE, Cummings J, Ritchie AA, Muir M, Morris RE, Chen H, et al. In vitro and in vivo activity and cross resistance profiles of novel ruthenium (II) organometallic arene complexes in human ovarian cancer. *British Journal of Cancer*. 2002;86:1652-7.
- Antonarakis ES, Emadi A. Ruthenium-based chemotherapeutics: Are they ready for prime time?. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*. 2010;66-(1):1-9.
- Barry N, Sadler PJ. Exploration of the medical periodic table: Towards new targets. *Chemical Communications*. 2013;49(45):5106-31.
- Bianco A, Kostarelos K, Prato M. Applications of carbon nanotubes in drug delivery. *Current Opinion in Chemical Biology*. 2005;9(6):674-9.

- Breglio AM, Rusheen AE, Shide ED, Fernandez KA, Spielbauer KK, McLachlin KM, et al. Cisplatin is retained in the cochlea indefinitely following chemotherapy. *Nature Communications*. 2017;8(1):1654.
- Debreczeni JÉ, Bullock AN, Atilla GE, Williams DS, Bregman H, Knapp S, et al. Ruthenium half-sandwich complexes bound to protein kinase Pimp-1. *Angewandte Chemie-International Edition*. 2006;45(10):1580-5.
- Flamme M, Clarke E, Gasser G, Hollenstein M. Applications of ruthenium complexes covalently linked to nucleic acid derivatives. *Molecules*. 2018;23(7):28-31.
- Fong J, Kasimova K, Arenas Y, Kaspler P, Lazic S, Mandel A, et al. A novel class of ruthenium-based photosensitizers effectively kills in vitro cancer cells and in vivo tumors. *Photochemical and Photobiological Sciences*. 2015;14(11):2014-23.
- Frasconi M, Liu Z, Lei J, Wu Y, Strekalova E, Malin D, et al. Photoexpulsion of surface-grafted ruthenium complexes and subsequent release of cytotoxic cargos to cancer cells from mesoporous silica nanoparticles. *Journal of the American Chemical Society*. 2013;135(31):11603-13.
- Gianferrara T, Bratsos I, Alessio E. A categorization of metal anticancer compounds based on their mode of action. *Dalton Transactions*. 2009;(37):7588-98.
- He L, Huang Y, Zhu H, Pang G, Zheng W, Wong YS, et al. Cancer-targeted monodisperse mesoporous silica nanoparticles as carrier of ruthenium polypyridyl complexes to enhance theranostic effects. *Advanced Functional Materials*. 2014;24(19):2754-63.
- Hess J, Huang H, Kaiser A, Pierroz V, Blacque O, Chao H, et al. Evaluation of the medicinal potential of two ruthenium (II) polypyridine complexes as one and two photon photodynamic therapy photosensitizers.
- Jiang Q, Song C, Nangreave J, Liu X, Lin L, Qiu D, et al. DNA origami as a carrier for circumvention of drug resistance. *Journal of the American Chemical Society*. 2012;134(32):13396-403.
- Kenny RG, Marmion CJ. Toward multi-targeted platinum and ruthenium drugs – A new paradigm in cancer drug treatment regimens?. *Chemical Reviews*. 2019;119(2):1058-1137.

- Knežević N, Stojanovic V, Chaix A, Bouffard E, Cheikh K El, Morère A, et al. Ruthenium (II) complex-photosensitized multifunctionalized porous silicon nanoparticles for two-photon near-infrared light responsive imaging and photodynamic cancer therapy. *Journal of Materials Chemistry B*. 2016;4(7):1337-42.
- Lazarević T, Rilak A, Bugarčić ŽD. Platinum, palladium, gold and ruthenium complexes as anticancer agents: Current clinical uses, cytotoxicity studies and future perspectives. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2017;142:8-31.
- Liu T, Zeng L, Jiang W, Fu Y, Zheng W, Chen T. Rational design of cancer-targeted selenium nanoparticles to antagonize multidrug resistance in cancer cells. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*. 2015;11(4):947-58.
- Meggers E, Atilla-Gokcumen GE, Bregman H, Maksimoska J, Mulcahy SP, Pagano N, et al. Exploring chemical space with organometallics: Ruthenium complexes as protein kinase inhibitors. *Synlett*. 2007;(8):1177-89.
- Meier-Menches SM, Gerner C, Berger W, Hartinger CG, Keppler BK. Structure-activity relationships for ruthenium and osmium anticancer agents-towards clinical development. *Chemical Society Reviews*. 2018;47(3):909-28.
- Pal M, Nandi U, Mukherjee D. Detailed account on activation mechanisms of ruthenium coordination complexes and their role as antineoplastic agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2018;150:419-45.
- Poynton FE, Bright SA, Blasco S, Williams DC, Kelly JM, Gunnlaugsson T. The development of ruthenium (II) polypyridyl complexes and conjugates for: In vitro cellular and in vivo applications. *Chemical Society Reviews*. 2017;46(24):7706-56.
- Rabik CA, Dolan ME. Molecular mechanisms of resistance and toxicity associated with platinating agents. *Cancer Treat Rev*. 2007 February;33(1):9-23.
- Rademaker-Lakhai JM, Van den Bongard D, Pluim D, Beijnen JH, Schellens J. A phase I and pharmacological study with imidazolium-trans-DMSO-imidazole-tetrachlororuthenate, a novel ruthenium anticancer agent. *Clinical Cancer Research*. 2004;10(11):3717-27.

- Smalley KSM, Contractor R, Haass NK, Kulp AN, Atilla-Gokcumen GE, Williams DS, et al. An organometallic protein kinase inhibitor pharmacologically activates p53 and induces apoptosis in human melanoma cells. *Cancer Research*. 2007;67(1):209-17.
- Wan D, Tang B, Wang YJ, Guo BH, Yin H, Yi QY, et al. Synthesis and anticancer properties of ruthenium (II) complexes as potent apoptosis inducers through mitochondrial disruption. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2017;139:180-90.
- Wang N, Feng Y, Zeng L, Zhao Z, Chen T. Functionalized multiwalled carbon nanotubes as carriers of ruthenium complexes to antagonize cancer multidrug resistance and radioresistance. *ACS Applied Materials and Interfaces*. 2015;7(27):14933-45.
- Yin H, Beh MHR, Cameron TS, Thompson A, Hetu M, Smithen DA, et al. Synthesis and photobiological activity of Ru(II) dyads derived from pyrrole-2-carboxylate thionoesters. *Inorganic Chemistry*. 2017;56(7):4121-32.
- Zeng L, Gupta P, Chen Y, Wang E, Ji L, Chao H, et al. The development of anticancer ruthenium (II) complexes: From single molecule compounds to nanomaterials. *Chemical Society Reviews*. 2017;46(19):5771-804.
- Zhang P, Huang H, Huang J, Chen H, Wang J, Qiu K, et al. Noncovalent ruthenium (II) complexes-single-walled carbon nanotube composites for bimodal photothermal and photodynamic therapy with near-infrared irradiation. *ACS Applied Materials and Interfaces*. 2015;7(41):23278-90.
- Zhang P, Wang J, Huang H, Yu B, Qiu K, Huang J et al. Unexpected high photothermal conversion efficiency of gold nanospheres upon grafting with two-photon luminescent ruthenium (II) complexes: A way towards cancer therapy?. *Biomaterials*. 2015;63:102-14.

