

Received: 21.05.2019
Accepted: 12.09.2019
Published: 19.02.2020

Właściwości przeciwnowotworowe związków rutenu – NAMI-A i KP1019

Anti-cancer properties of ruthenium compounds: NAMI-A and KP1019

Michał Juszczak, Magdalena Kluska, Daniel Wysokiński, Katarzyna Woźniak

Katedra Genetyki Molekularnej, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki

Streszczenie

Badania nad nowymi terapiami nowotworów to jedno z najważniejszych wyzwań współczesnej medycyny i biologii. Wiele dekad badań przyniosło wymierne korzyści zarówno w poznaniu mechanizmów molekularnych leżących u podstaw nowotworzenia, jak i w postaci rozwoju metod terapii nowotworów. Mimo to nowotwory nadal do schorzeń o najwyższej śmiertelności, a ich zwalczanie w wielu przypadkach jest nieskuteczne i obciążone wieloma działaniami niepożądanymi. Strategie terapeutyczne, dotyczące zarówno celowanego działania w ogniska komórek nowotworowych, jak i zapobieganie ich przerzutowaniu, skupiają się przede wszystkim na poszukiwaniu nowych związków chemicznych, wśród których istotną rolę zajmują kompleksy zawierające różne metale. Duże nadzieje wiąże się obecnie ze związkami zawierającymi ruten, a w artykule przedstawiono stan wiedzy nad zastosowaniem w terapii antynowotworowej dwóch związków tego typu – NAMI-A i KP1019.

Słowa kluczowe:

kompleksy rutenu • NAMI-A • KP1019 • cytotoksyczność • metastaza • transferyna

Summary

Cancer research is among the key challenges in current medicine and biology. Many decades of investigations have brought measurable benefits in both areas with regard to expanding the knowledge of the molecular mechanism of cancer and developing treatment strategies. Despite that cancers are still among diseases with the highest mortality rate, and cancer treatment is often unsuccessful and connected with severe side effects. The development of therapeutic strategies in both targeting the primary tumor origin and preventing metastasis is largely based on testing newly synthesized chemical agents, including a group of metal-containing complexes. It seems that ruthenium-containing complexes are of high potential in cancer therapy, and our work presents the current data about the application of ruthenium-based complexes – NAMI-A and KP1019 in cancer therapy.

Keywords:

ruthenium complexes • NAMI-A • KP1019 • cytotoxicity • metastasis • transferrin

GICID 01.3001.0013.8549
DOI: 10.5604/01.3001.0013.8549
Word count: 4621
Tables: –
Figures: 3
References: 62

Adres autorki: prof. dr hab. Katarzyna Woźniak, Katedra Genetyki Molekularnej, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź; e-mail: katarzyna.wozniak@biol.uni.lodz.pl

Wykaz skrótów: **ATF-3** – aktywator transkrypcji (activating transcription factor 3); **DDR** – odpowiedź na uszkodzenia DNA (DNA damage response); **HIF-1** – czynnik indukowany hipoksją (hypoxia-inducible factor 1); **ILK** – kinaza związana z integrzynami (integrin-linked kinase); **MMP** – metaloproteinaza macierzy zewnątrzkomórkowej (matrix metalloproteinase); **MTT** – test proliferacji komórek (MTT Cell Proliferation Assay); **RFT** – reaktywne formy tlenu (reactive oxygen species); **TGF-β1** – transformujący czynnik wzrostu beta 1 (transforming growth factor β1); **VEGF** – czynnik wzrostu śródbłonna naczyń (vascular endothelial growth factor).

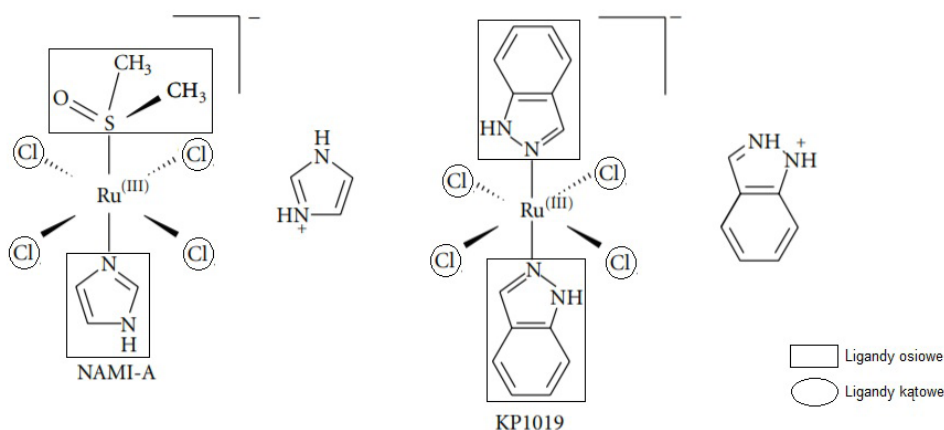
WSTĘP

W ciągu ostatnich kilkudziesięciu lat popularnymi lekami przeciwnowotworowymi były związki platyny. Wśród nich nadal najczęściej jest stosowana cisplatyna wykorzystywana u chorych z nowotworami m.in. jajnika, płuca, głowy i szyi [53]. Niestety, związek ten wykazuje znaczące działania niepożądane obejmujące: nefrotoksyczność, neurotoksyczność, utratę włosów czy też wymioty [21]. Rozpoczęto badania nad nowymi związkami, których stosowanie nie wiązałoby się z tak poważnymi działaniami niepożądanymi. Badania objęły szeroki zakres kompleksów zawierających: żelazo, osm, iryd, rod, złoto, a także ruten [27, 54].

Analizy wykazały, że ruten i jego kompleksy mają właściwości, które wyróżniają go wśród innych metali. Jest to m.in. duża stabilność, która wiąże się z czasem wymiany ligandów, który w związkach rutenu zazwyczaj wyraża się w godzinach, co odpowiada czasowi potrzebnemu do podziałów komórkowych [58]. Ruten może przyjmować stopnie utlenienia od II do IV, których zmiana (poprzez proces utleniania czy redukcji) jest możliwa w warunkach fizjologicznych [13]. Ubogie w tlen środowisko komórki nowotworowej stwarza warunki promujące redukcję Ru(III) do Ru(II), co powoduje wzrost aktywności kompleksu i interakcji z różnymi cząsteczkami w komórce [1]. Ukierunkowuje to działanie związków rutenu na komórki nowotworowe. W przeciwieństwie do cisplatyny, kompleksy

oparte o rdzeń rutenowy nie wykazują dużej cytotoksyczności na komórki prawidłowe. Ponadto badania biochemiczne i histopatologiczne wykazały niewielką neuro- oraz nefrotoksyczność związków rutenu w porównaniu do związków platyny [6]. Inną istotną właściwością rutenu jest jego zdolność do naśladowania żelaza, co przejawia się wiązaniem do transferyny. Komórki nowotworowe, ze względu na zmieniony metabolizm, mają większe zapotrzebowanie na żelazo w porównaniu do komórek prawidłowych [32]. Jest to kolejny mechanizm ukierunkowujący działanie związków rutenu na komórki nowotworowe.

NAMI-A i KP1019 to dwa koordynacyjne związki rutenu (III), które poddano badaniom klinicznym. Badania pierwszej fazy zakończyły się w 2004 r. dla NAMI-A i w 2008 r. dla KP1019 [5, 40]. Ich aktywność opiera się na przyłączeniu sześciu ligandów, które można podzielić na osiowe i kątowe. Dwa ligandy osiowe zawierające atomy siarki bądź azotu są odpowiedzialne za właściwości steryczne. Cztery ligandy kątowe mogą być zastąpione innymi pod wpływem warunków panujących w komórce, np. związanych ze zmianą pH [19]. NAMI-A ((H₂Im)[trans-Ru^{III}Cl₄(DMSO)(Im)]) to kompleks rutenu, zawierający w swojej sferze koordynacyjnej ligandy osiowe – dimetylosulfotlenkowy (DMSO) i imidazolowy oraz kątowe – cztery jony chlorkowe (ryc. 1). Natomiast KP1019 ((HInd)[trans-Ru^{III}Cl₄(Ind)₂]) to związek, w którym ruten tworzy kompleks z czterema jonami chlorkowymi, a także dwoma indazolowymi (ryc. 1).



Ryc. 1. Budowa NAMI-A oraz KP1019

CYTOTOKSYCZNOŚĆ NAMI-A I KP1019

Oprócz terapeutycznego wpływu danego związku, istotnym jego działaniem jest cytotoksyczność względem komórek prawidłowych. Wiąże się to z występowaniem oraz intensywnością działań niepożądanych i dlatego trzeba je uwzględniać jako dodatkowy czynnik w terapeutycznym zastosowaniu danego związku [61]. Oceniając cytotoksyczność względem komórek prawidłowych, wykazano, że NAMI-A wykazuje ją w niewielkim stopniu [4]. Wykazano także, że NAMI-A działa bardzo cytotoksycznie, nawet w niewielkich stężeniach na niektóre komórki białaczkowe, takie jak HL-60 i K562 [50].

Badania wykazały, że zarówno KP1019, jak i sól sodowa tego związku KP1339, mają niewielką, zbliżoną do siebie cytotoksyczność na komórki prawidłowe. Można zatem przypuszczać, że działają według podobnego mechanizmu, a modyfikacja chemiczna KP1019 prowadząca do powstania soli KP1339 o lepszej rozpuszczalności, nie ogranicza potencjału terapeutycznego związku [34]. Porównano także cytotoksyczność KP1019 i KP1339 z cisplatyną i etopozydem. Badania przeprowadzone na liniach komórkowych raka jelita grubego (HT29 i SW480) wykazały znacząco mniejszą cytotoksyczność kompleksów rutenowych [36]. Przeprowadzono ponadto badania, które dowiodły, że KP1339 aktywuje kaspazy-3, -7 i -8 w komórkach nowotworowych trzustki Caspan-1, prowadząc do ich apoptozy [55].

W innych badaniach udowodniono, że jony różnych metali mogą wpływać na cytotoksyczność KP1019. Analiza żywotności komórek HeLa testem MTT wykazała znaczące zwiększenie cytotoksyczności KP1019 w obecności jonów: glinu, kadmu, miedzi, a zwłaszcza cynku [28].

TRANSPORT WE KRWI

Transport związków zawierających ruten bada wielu uczonych m.in. z powodu zdolności jonów Ru(III) do naśladowania Fe(III). Stwarza to możliwości zastosowania w terapii strategii tzw. konia trojańskiego, która w założeniu pozwoliłaby na wprowadzenie do komórki związków zawierających ruten przez fizjologiczną drogę transportu żelaza z wykorzystaniem transferyny [42]. Wykazano, że NAMI-A może się wiązać do transferyny i albuminy, tworząc stabilne addukty w różnych stosunkach molowych [8]. Wykonano badania dowodzące, że addukty, które powstają między albuminą i NAMI-A, są aktywne farmakologicznie. Działanie takie może mieć związek z antymetastatyczną aktywnością, która przejawia się m. in. przez zwiększenie adhezji komórkowej [46].

Przeprowadzono także badania dotyczące oddziaływania KP1019 i transferyny w postaci wolnej od żelaza (apotransferyna). Badania spektroskopowe dostarczyły dowodów na formowanie adduktów apotransferyny i KP1019 [37]. Wykonano także badania krystalograficzne z wykorzystaniem apolaktoferyny, która wykazuje znaczne podobieństwo do transferyny, zarówno strukturalne, jak i funkcjonalne, jednak charakteryzuje się więk-

szą zdolnością do formowania kryształów. Wyniki badań wykazały, że fragment kompleksu zawierający ruten łączy się koordynacyjnie z histydyną w pozycji 253, znajdująca się w miejscu wiążącym żelazo [38]. Ta interakcja tłumaczyłaby zdolność rutenu do naśladowania żelaza.

INTERAKCJE Z KWASAMI NUKLEINOWYMI

Porównano zdolność NAMI-A, KP1019 i cisplatyny do tworzenia adduktów z DNA i wykazano, że potencjał do ich formowania dla obu związków zawierających ruten jest znacząco niższy niż cisplatyny. Preferencyjnym miejscem wiązania związków rutenowych z DNA, podobnie jak w przypadku cisplatyny, jest guanina [30]. Badacze sprawdzili interakcje, które zachodzą między NAMI-A i DNA. Badania miały na celu określenie preferencji do tworzenia wiązań między rutenem znajdującym się w centrum cząsteczki NAMI-A, a poszczególnymi atomami występującymi w zasadach azotowych. Wyniki badań wykazały, że zdolność rutenu do wiązania się z atomami azotu w cząsteczce guaniny jest zależna od stopnia uwodnienia NAMI-A. Zarówno w jednowodnym, jak i dwuwodnym NAMI-A najbardziej preferowanym atomem był azot w pozycji 7, który okazuje się skuteczniejszy od atomów azotu w pozycji 3 oraz 1. Wiązanie między rutenem a N7G według obliczeń jest stabilizowane przez największą liczbę wiązań wodorowych [22]. W przypadku KP1019 interakcje z DNA powodują formowanie wiązań krzyżowych oraz indukcję pęknięć nici. Ponadto wiązanie się do DNA wpływa na konformację podwójnej helisy [12]. Badania wykonane w 2011 r. wykazały, że NAMI-A oddziałuje z RNA drożdży w liczbie 2-5 kompleksów Ru-RNA na rybosom [35]. Uzyskane wyniki wskazywały, że RNA może być potencjalnym celem oddziaływania NAMI-A. W innych badaniach skupiono się na zdolności zarówno NAMI-A, jak i KP1019 do wiązania się z tRNA^{Phe}. Po raz pierwszy zaobserwowano interakcję KP1019 z RNA. Zaproponowano następujące mechanizmy interakcji związków rutenowych z RNA: elektrostatyczne oddziaływanie dla NAMI-A oraz interkalację między zasady w cząsteczce tRNA^{Phe} dla KP1019. Otrzymane wyniki wskazują, że interakcje z tRNA^{Phe} mogą odgrywać potencjalną rolę w działaniu KP1019 i najprawdopodobniej nie mają wpływu na działanie NAMI-A [23].

INTERAKCJE Z BIAŁKAMI

Ze względu na stosunkowo słabe interakcje związków rutenowych z DNA, zajęto się ich oddziaływaniami z białkami. Przeprowadzono m.in. badania dotyczące interakcji NAMI-A z lizozymem jaja kurzego. Badania krystalograficzne wykazały, że kompleks rutenowy utracił wszystkie dołączone ligandy i jako wolny jon wszedł w interakcję z lizozymem przez utworzenie wiązań koordynacyjnych z dwoma odrębnymi kwasami asparginowymi białka w pozycjach 101 i 119 [45].

Białkiem, które badano pod kątem interakcji ze związkami rutenu była także anhydraza węglanowa. W przypadku interakcji z tym białkiem badania wskazały na koordyna-

cyjne wiązanie się wolnego jonu rutenu z grupą imidazolową histydyny 64 [17]. Badacze przeanalizowali ponadto potencjalne interakcje między NAMI-A i ferrytyną, a dokładniej jej podjednostką H. Wyniki umożliwiły identyfikację miejsca wiążącego ruten. Jon rutenu utworzył wiązanie koordynacyjne z histydyną w pozycji 105. Powstały addukt między NAMI-A, a podjednostką H ferrytyny może być potencjalnie wykorzystany jako selektywny nośnik jonów rutenowych do komórek nowotworowych [20].

Następne badania dotyczyły interakcji KP1019 z albuminą ludzkiej surowicy. Analizowana struktura białka wykazała obecność dwóch miejsc, w których był związany ruten. Oba centra metalowe zostały związane z azotem obecnym w grupie imidazolowej histydyny w pozycjach 146 oraz 242 [11]. Zbadano także, czy NAMI-A wchodzi w interakcję z tym białkiem. Wyniki, podobnie jak w przypadku KP1019, wskazały na utworzenie wiązań koordynacyjnych z grupą imidazolową histydyny [60]. Na podstawie tych doświadczeń zaproponowano mechanizm „rutencji białka” przez NAMI-A, który byłby następujący: kompleks ulega degradacji przez odłączenie się ligandów, a jon rutenu przyłącza się do białka, głównie przez grupę imidazolową histydyny bądź grupę karboksylową kwasu asparaginowego lub glutaminowego [44].

ANTYMETASTATYCZNE WŁAŚCIWOŚCI NAMI-A

Przerzutowanie (inaczej metastaza), będące jednym z aspektów progresji nowotworu, jest procesem złożonym. Przerzuty są zazwyczaj najczęstszą przyczyną zgonów pacjentów z chorobą nowotworową. Późne wykrycie nowotworu i diagnoza w stadiach, w których stwierdza się pojawienie nowych ognisk komórek nowotworowych, oddalonych od pierwotnego miejsca, bardzo zawęża metody, które można wykorzystywać w terapii [2, 39]. Dlatego też poszukiwanie związków, które wykazują dużą skuteczność względem przerzutów nowotworowych, zyskuje coraz większe znaczenie pod kątem strategii leczenia [26].

Jednym z pierwszych etapów przerzutowania jest aktywacja czynnika indukowanego hipoksją HIF-1 α [47]. Komórka, aby uniknąć apoptozy spowodowanej hipoksją, zwiększa ekspresję HIF-1 α , który po wnikięciu do jądra i związaniu z HIF-1 β , może indukować ekspresję m.in. czynnika wzrostu śródbłonnka naczyń (VEGF) odpowiedzialnego za powstawanie nowych naczyń krwionośnych [51]. Aby mógł się dalej rozwijać nowotwór, niezbędna jest degradacja macierzy zewnątrzkomórkowej, która otacza komórki nowotworowe. W jej przebudowie główną rolę odgrywają metaloproteiny macierzy zewnątrzkomórkowej (MMP). Enzymy te degradują macierz zewnątrzkomórkową, a to ogranicza barierę fizyczną do rozwoju nowotworu, a ponadto otwiera drogę do naczyń krwionośnych i limfatycznych, którymi komórki nowotworowe rozprzestrzeniają się w organizmie [24]. Warunkiem koniecznym, który muszą spełnić komórki mające zapoczątkować przerzutowanie jest nabyte zdolności do przeżycia, mimo braku kontaktu z innymi

komórkami i macierzą zewnątrzkomórkową, czyli anoikis. Znaczącą rolę odgrywają tutaj kinazy związane z integrinami (ILK) [16]. Pod wpływem mikrośrodowiska guza dochodzi do zmiany fenotypu komórki nowotworowej na taki, który charakteryzuje się zwiększoną mobilnością (przejście epitelialno-mezenchymalne). Komórka w czasie przejścia traci ścisłe połączenia z innymi komórkami, a jej cytoskielet ulega reorganizacji, co pozwala na uzyskanie fenotypu inwazyjnego [62].

Zestawiono aktywności koordynacyjnych związków rutenowych, w tym NAMI-A i KP1019, pod kątem hamowania rozwoju komórek guza pierwotnego i komórek zdolnych do metastazy. Wyniki wykazały brak selektywności cytotoksyczności KP1019 na oba typy komórek, a także bardzo wysoką selektywność NAMI-A pod kątem cytotoksycznego działania względem komórek metastatycznych [59]. Duża aktywność antymetastatyczna NAMI-A wskazuje na selektywność działania związku, a także na mechanizm działania odmienny od leków opartych o platynę. Aktywność antymetastatyczna NAMI-A jest niezależna od dawki, częstości stosowania, drogi podawania związku i zaawansowania rozwoju guza [3]. Badania wykonane na linii komórkowej śródbłonnka ECV304 wskazują na potencjał NAMI-A do modulowania procesu angiogenezy. Przypuszcza się, że ważną rolę odgrywa zdolność wiązania przez NAMI-A tlenku azotu (NO), przez co zmniejsza się dostępność tego gazowego transmittera, który jest wykorzystywany przez komórki nowotworowe do modulowania procesu angiogenezy [18].

NAMI-A obniża ekspresję metaloproteinaz MMP-2 oraz MMP-9 [31]. Przeprowadzono ponadto badania nad wpływem NAMI-A na aktywność TGF- β 1, co wiązało się także z oceną redukcji migracji komórek linii HBL-100, MCF-7 i MDA-MB-231. Wyniki wykazały, że w przypadku linii HBL-100, będącej odpowiednikiem komórek prawidłowych, związek nie wpłynął w żaden sposób na ilość białka TGF- β 1, a w obu liniach nowotworowych MCF-7 oraz MDA-MB-231 zaobserwowano znaczące obniżenie jego ilości. Spadek poziomu białka TGF- β 1 obserwowano w stężeniu 1 μ M w komórkach MDA-MB-231 i 10 μ M w komórkach MCF-7. Po zastosowaniu NAMI-A w stężeniu 100 μ M zaobserwowano gwałtowny wzrost ilości TGF- β 1. Zaobserwowano ponadto znaczące obniżenie inwazyjności linii MDA-MB-231 oraz MCF-7 po zastosowaniu stężenia 100 μ M, co świadczy o tym, że prawdopodobnie za antymetastatyczną aktywność NAMI-A odpowiada inne białko [14].

NAMI-A zmniejsza poziom integryny α 5 β 1 na powierzchni komórek HCT-116. Badania wykazały, że najskuteczniejsza inhibicja ekspresji genów obu podjednostek tej integryny występowała po zastosowaniu NAMI-A w stężeniu 1 μ M. Zastosowanie stężenia 100 μ M spowodowało zwiększenie ekspresji genu kodującego podjednostkę α 5, co nie wiąże się ze zwiększeniem aktywności integryny α 5 β 1, gdyż do prawidłowego funkcjonowania potrzebuje ona zarówno podjednostki α 5, jak i β 1 [48].

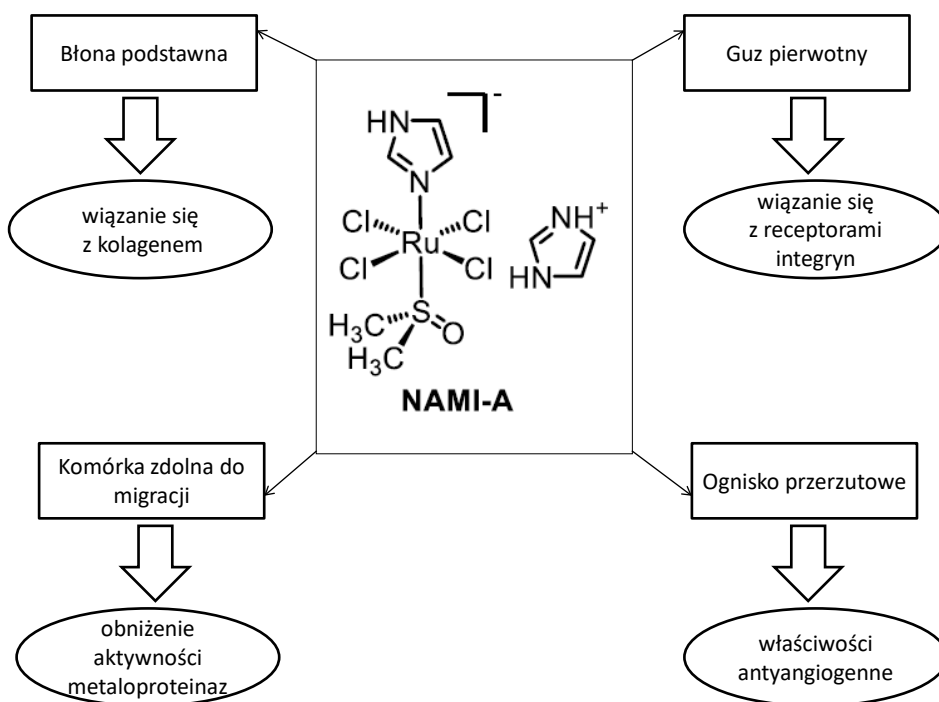
W ostatnich latach przeprowadzono badania mające na celu sprawdzenie, jaki wpływ ma NAMI-A na ekspresję genów zaangażowanych w proces metastazy. Badania przeprowadzono na komórkach raka jelita grubego linii HCT-116. W trzech badanych genach - *ABL-2*, *ATF-3*, *RND-1* zaobserwowano znaczące obniżenie ich ekspresji [9]. Badania wykonane na modelu zwierzęcym wykazały, że NAMI-A selektywnie wiąże się do włókien kolagenowych, a także błony podstawnej znajdującej się w okolicach guza. Może to doprowadzić do interkalacji związku do sieci kolagenowej, przez co komórkom nowotworowym jest trudniej rozpocząć migrację [41].

Interakcje biologiczne odpowiadające za antymetastatyczne właściwości NAMI-A przedstawiono na ryc. 2.

MECHANIZM DZIAŁANIA KP1019

Niedawno przeprowadzone badania wykazały, że mechanizm działania KP1019 oraz NAMI-A jest odmienny, a przyczyny tego upatruje się w różnicach w procesie uwodnienia oraz aktywacji rutenu [43]. Głównym czynnikiem wydaje się jednak drastyczna różnica w wychwycie komórkowym obu związków. Wykazano bardzo znaczące różnice w wychwycie komórkowym, który okazał się minimalny dla NAMI-A w porównaniu do KP1019 [29]. Badania przeprowadzone w 2016 r. na komórkach raka okrężnicy wykazały, że KP1339 może oddziaływać na białka obecne w cytozolu, a to wywołuje stres oksydacyjny i stres retikulum endoplazmatycznego. Możliwe jest wejście komórki na mitochondrialny szlak apopto-

tyczny w wyniku powstałych uszkodzeń [25]. Otrzymane wyniki skłoniły badaczy do sprawdzenia, czy mechanizm działania oparty o zwiększone wytwarzanie reaktywnych form tlenu to główne oddziaływanie KP1019, czy też tylko jeden z możliwych mechanizmów, przez który może działać ten związek. Wykonano wiele eksperymentów na drożdżach jako organizmach modelowych. Wysoka homologia między białkami drożdżowymi i ludzkimi pozwala na odkrycie potencjalnego wpływu KP1019 na komórki człowieka [57]. Ekspozycja komórek drożdży na KP1019 powoduje uszkodzenia DNA, które indukują odpowiedź komórki (DDR). Odpowiedź ta zatrzymuje cykl komórkowy w punkcie kontrolnym związanym z białkiem Rad9. W przypadku mutantów pozbawionych genu *Rad9* obserwowano zdecydowanie większą wrażliwość komórek na KP1019, co świadczy o krytycznej roli DDR w tolerancji na ten związek [10]. Wykazano, że pewne zewnętrzne czynniki mogą modulować cytotoksyczny potencjał KP1019. Obecność jonów metali, takich jak: miedź, mangan, cynk czy glin zwiększają cytotoksyczność związku najprawdopodobniej przez synergistyczne oddziaływanie z KP1019. Wykazano także, że aktywność związku zmniejsza się przez działanie zredukowanego glutationu (GSH), który redukuje wychwyt komórkowy KP1019. Jony Fe^{2+} także zmniejszają aktywność KP1019, jednak wyjaśnienie tego wymaga dalszych badań [5]. Wykazano, że KP1019 tworzy addukty z histonem H3. Ponadto zakrojone na szeroką skalę analizy transkryptomu drożdży po ekspozycji na KP1019 wykazały znaczące zmiany ekspresji genów zaangażowanych w różne procesy komórkowe, takie jak: sygnalizacja komórkowa, naprawa uszkodzeń DNA, bioge-



Ryc. 2. Interakcje biologiczne odpowiadające za antymetastatyczne właściwości NAMI-A (wg [5] zmodyfikowano)

neza rybosomów czy stres osmotyczny, w który zaangażowane jest białko Hog1. Analiza komputerowa wskazała homologiczne geny człowieka, na ekspresję których może wpływać KP1019 [28]. Schemat przedstawiający poznane oraz przewidywane cele molekularne KP1019 przedstawiono na ryc. 3.

BADANIA *IN VIVO* Z WYKORZYSTANIEM NAMI-A I KP1019

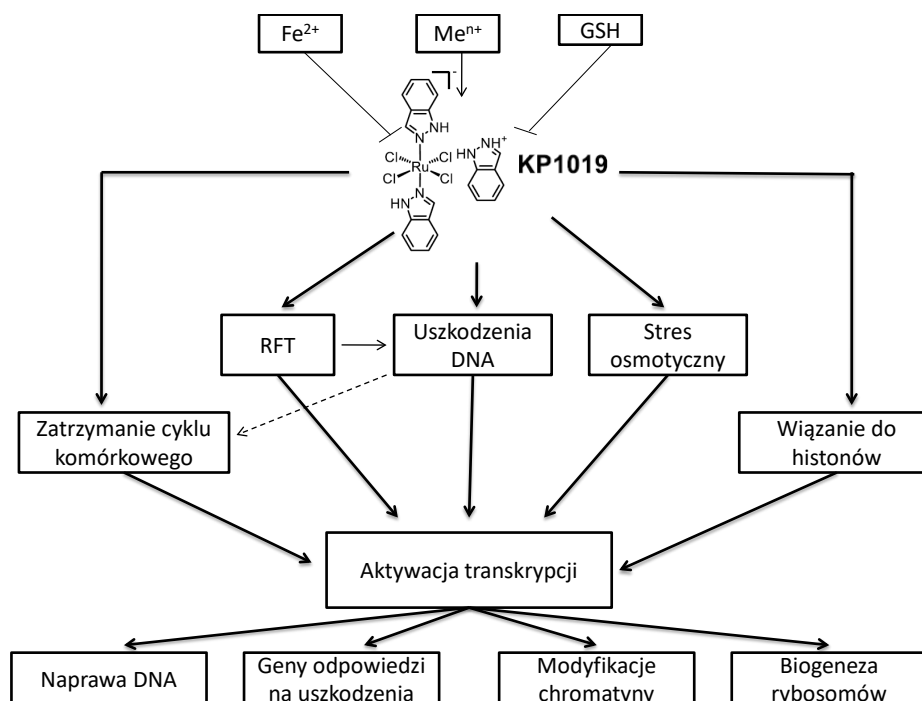
NAMI-A był pierwszym związkiem rutenowym, który został podany pacjentom. Pierwsza faza badań klinicznych rozpoczęła się w 1999 r. i objęła 24 pacjentów z różnymi typami nowotworów, w tym: okrężnicy, jelita grubego i niedrobnokomórkowego raka płuca [5]. Najbardziej obiecujące rezultaty uzyskano u pacjentów z niedrobnokomórkowym rakiem płuca. Rozwój nowotworu u jednego z pacjentów został zatrzymany na 21 tygodni. Korelowało to z wynikami badań prowadzonych na mysich modelach raka płuca, co sugerowało rozpoczęcie dalszych badań klinicznych nad zastosowaniem NAMI-A jako leku przeciwko temu rakowi [52].

Przeprowadzono testy przedkliniczne z KP1019 na szczurach z platynoopornym rakiem jelita grubego, który pod względem histologicznym przypomina ludzki nowotwór jelita grubego. Zaobserwowano znaczącą redukcję masy guza sięgającą 70% [56]. Ponadto wykonano badania na myszach, u których indukowano nowotwór piersi. Testy wykazały dużą skuteczność KP1019 w zwalczaniu guzów pierwotnych [7]. KP1019 był drugim po NAMI-A kompleksem rutenowym, z którym rozpoczęto badania kliniczne. Badania I fazy objęły niewielką 8-osobową grupę

pacjentów z różnymi nowotworami, m.in. wątroby, odbytnicy i endometrium. U 5 pacjentów stwierdzono ustabilizowanie się choroby na co najmniej 8 tygodni [33]. Postanowiono także sprawdzić, czy zwiększenie rozpuszczalności związku zwiększy jego potencjał przeciwnowotworowy, w tym celu zaczęto badania z solą KP1339. Badanie kliniczne KP1339 przeprowadzono u 46 pacjentów z różnymi typami nowotworów, w tym jelita grubego, niedrobnokomórkowego raka płuca oraz nowotworów głowy i szyi. Zatrzymanie rozwoju nowotworu wystąpiło u ponad 25% pacjentów [15, 49].

PODSUMOWANIE

Poszukiwanie nowych, skuteczniejszych metod w terapii nowotworów należy do niezwykle istotnych kierunków badań we współczesnych naukach biomedycznych. Kompleksy metali należą do obiecujących grup wśród współcześnie testowanych pod tym kątem substancji. Cisplatyna jest bardzo skutecznym lekiem w terapii wielu typów nowotworów i stanowi niejako punkt odniesienia dla nowych, potencjalnych leków zawierających metal. Badania nad kompleksami zawierającymi ruten NAMI-A i KP1019 są obiecujące, zwłaszcza pod kątem niewielkiej toksyczności tych związków na komórki prawidłowe, jak również pod kątem ich działania antymetastatycznego. Precyzyjne mechanizmy działania NAMI-A i KP1019 nie są dokładnie poznane i wymagają dalszych badań. Zaznaczyć jednak należy, iż według dostępnych danych, mechanizm działania cisplatyny oraz scharakteryzowanych w artykule kompleksów rutenowych jest różny, ponieważ cisplatyna oddziałuje



Ryc. 3. Poznane oraz potencjalne cele biologiczne KP1019 (wg [5] zmodyfikowano)

przede wszystkim z DNA, natomiast w kompleksach rutenowych mechanizm działania opiera się na oddziaływaniu z białkami, a także wpływa na poziom ekspresji wielu genów. Wnioskować zatem można, że działanie

kompleksów rutenowych opiera się na bardziej złożonych interakcjach ze składnikami komórki i wymaga dalszych badań w celu ich pełniejszego poznania.

PIŚMIENICTWO

- [1] Abid M., Shamsi F., Azam A.: Ruthenium complexes: An emerging ground to the development of metallopharmaceuticals for cancer therapy. *Mini Rev. Med. Chem.*, 2016; 16: 772–786
- [2] Adeel M.M., Qasim M., Ashfaq U.A., Masoud M.S., Rehman M.U., Qamar M.T., Javed M.R.: Modelling and simulation of mutant alleles of breast cancer metastasis suppressor 1 (BRMS1) gene. *Bioinformatics*, 2014; 10: 454–459
- [3] Alessio E.: Thirty years of the drug candidate NAMI-A and the myths in the field of ruthenium anticancer compounds: A personal perspective. *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2017: 1549–1560
- [4] Alessio E., Messori L.: The deceptively similar ruthenium(III) drug candidates KP1019 and NAMI-A have different actions. What did we learn in the past 30 years? *Met. Ions Life Sci.*, 2018; 18: 141–170
- [5] Alessio E., Messori L.: NAMI-A and KP1019/1339, two iconic ruthenium anticancer drug candidates face-to-face: A case story in medicinal inorganic chemistry. *Molecules*, 2019; 24: 1995
- [6] Anchuri S.S., Thota S., Yerra R., Devarakonda K.P., Dhulipala S.: Novel mononuclear ruthenium(II) compounds in cancer therapy. *Asian Pac. J. Cancer Prev.*, 2012; 13: 3293–3298
- [7] Bergamo A., Masi A., Jakupec M.A., Keppler B.K., Sava G.: Inhibitory effects of the ruthenium complex KP1019 in models of mammary cancer cell migration and invasion. *Met. Based Drugs*, 2009; 681270
- [8] Bergamo A., Messori L., Piccioli F., Cocchiello M., Sava G.: Biological role of adduct formation of the ruthenium(III) complex NAMI-A with serum albumin and serum transferrin. *Invest. New Drugs*, 2003; 21: 401–411
- [9] Bergamo A., Pelillo C., Chambery A., Sava G.: Influence of components of tumour microenvironment on the response of HCT-116 colorectal cancer to the ruthenium-based drug NAMI-A. *J. Inorg. Biochem.*, 2017; 168: 90–97
- [10] Bierle L.A., Reich K.L., Taylor B.E., Blatt E.B., Middleton S.M., Burke S.D., Stultz L.K., Hanson P.K., Partridge J.F., Miller M.E.: DNA damage response checkpoint activation drives KP1019 dependent pre-anaphase cell cycle delay in *S. cerevisiae*. *PLoS One*, 2015; 10: e138085
- [11] Bijelic A., Theiner S., Keppler B.K., Rompel A.: X-ray structure analysis of indazolium trans-[tetrachlorobis(1*h*-indazole) ruthenate(III)] (KP1019) bound to human serum albumin reveals two ruthenium binding sites and provides insights into the drug binding mechanism. *J. Med. Chem.*, 2016; 59: 5894–5903
- [12] Brabec V., Kasparkova J.: Ruthenium coordination compounds of biological and biomedical significance. DNA binding agents. *Coord. Chem. Rev.*, 2018; 376: 75–94
- [13] Bratsos I., Jedner S., Gianferrara T., Alessio E.: Ruthenium anticancer compounds: challenges and expectations. *Chimia*, 2007; 61: 692–697
- [14] Brescacin L., Masi A., Sava G., Bergamo A.: Effects of the ruthenium-based drug NAMI-A on the roles played by TGF- β 1 in the metastatic process. *J. Biol. Inorg. Chem.*, 2015; 20: 1163–1173
- [15] Burris H.A., Bakewell S., Bendell J.C., Infante J., Jones S.F., Spigel D.R., Weiss G.J., Ramanathan R.K., Ogden A., Von Hoff D.: Safety and activity of IT-139, a ruthenium-based compound, in patients with advanced solid tumours: a first-in-human, open-label, dose-escalation phase I study with expansion cohort. *ESMO Open*, 2017; 1: e000154
- [16] Cao Z., Livas T., Kyprianou N.: Anoikis and EMT: Lethal “liaisons” during cancer progression. *Crit. Rev. Oncog.*, 2016; 21: 155–168
- [17] Casini A., Temperini C., Gabbiani C., Supuran C.T., Messori L.: The x-ray structure of the adduct between NAMI-A and carbonic anhydrase provides insights into the reactivity of this metallodrug with proteins. *Chem. Med. Chem.*, 2010; 5: 1989–1994
- [18] Castellarin A., Zorzet S., Bergamo A., Sava G.: Pharmacological activities of ruthenium complexes related to their NO scavenging properties. *Int. J. Mol. Sci.*, 2016; 17: E1254
- [19] Caterino M., Herrmann M., Merlino A., Riccardi C., Montesarchio D., Mroginski M.A., Musumeci D., Ruffo F., Paduano L., Hildebrandt P., Kozuch J., Vergara A.: On the pH-modulated Ru-based prodrug activation mechanism. *Inorg. Chem.*, 2019; 58: 1216–1223
- [20] Ciambellotti S., Pratesi A., Severi M., Ferraro G., Alessio E., Merlino A., Messori L.: The NAMI A-human ferritin system: A biophysical characterization. *Dalton Trans.*, 2018; 47: 11429–11437
- [21] Ciarimboli G.: Membrane transporters as mediators of cisplatin side-effects. *Anticancer Res.*, 2014; 34: 547–550
- [22] Das D., Khan M.S., Barik G., Avastare V., Pal S.: Computational approach to unravel the role of hydrogen bonding in the interaction of NAMI-A with DNA nucleobases and nucleotides. *J. Phys. Chem. A.*, 2018; 122: 8397–8411
- [23] Dwyer B.G., Johnson E., Cazares E., McFarlane Holman K.L., Kirk S.R.: Ruthenium anticancer agent KP1019 binds more tightly than NAMI-A to tRNA Phe. *J. Inorg. Biochem.*, 2018; 182: 177–183
- [24] Fink K., Boratynski L.: Rola metaloproteinaz w modyfikacji macierzy zewnątrzkomórkowej w nowotworowym wroście inwazyjnym, w przerzutowaniu i w angiogenezie. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2012; 66: 609–628
- [25] Flocke L.S., Trondl R., Jakupec M.A., Keppler B.K.: Molecular mode of action of NKP-1339 – a clinically investigated ruthenium-based drug – involves ER- and ROS-related effects in colon carcinoma cell lines. *Invest. New Drugs*, 2016; 34: 261–268
- [26] Gandalovičová A., Rosel D., Fernandes M., Veselý P., Heneberg P., Čermák V., Petruželka L., Kumar S., Sanz-Moreno V., Brábek J.: Migrastatics-anti-metastatic and anti-invasion drugs: promises and challenges. *Trends Cancer*, 2017; 3: 391–406
- [27] Gasser G., Ott I., Metzler-Nolte N.: Organometallic anticancer compounds. *J. Med. Chem.*, 2011; 54: 3–25
- [28] Golla U., Swagatika S., Chauhan S., Tomar R.S.: A systematic assessment of chemical, genetic, and epigenetic factors influencing the activity of anticancer drug KP1019 (FFC14A). *Oncotarget*, 2017; 8: 98426–98454
- [29] Gransbury G.K., Kappen P., Glover C.J., Hughes J.N., Levina A., Lay P.A., Musgrave I.F., Harris H.H.: Comparison of KP1019 and NAMI-A in tumour-mimetic environments. *Metallomics*, 2016; 8: 762–773
- [30] Groessl M., Tsybin Y.O., Hartinger C.G., Keppler B.K., Dyson P.J.: Ruthenium versus platinum: interactions of anticancer metallo-drugs with duplex oligonucleotides characterised by electrospray ionisation mass spectrometry. *J. Biol. Inorg. Chem.*, 2010; 15: 677–688
- [31] Gu L., Li X., Ran Q., Kang C., Lee C., Shen J.: Antimetastatic activity of novel ruthenium (III) pyridine complex. *Cancer Med.*, 2016; 5: 2850–2860
- [32] Guo W., Zheng W., Luo Q., Li X., Zhao Y., Xiong S., Wang F.: Transferrin serves as a mediator to deliver organometallic ruthenium(II) anticancer complexes into cells. *Inorg. Chem.*, 2013; 52: 5328–5338
- [33] Hartinger C.G., Jakupec M.A., Zorbas-Seifried S., Groessl M., Egger A., Berger W., Zorbas H., Dyson P.J., Keppler B.K.: KP1019, a new redox-active anticancer agent-preclinical development and results of a clinical phase I study in tumor patients. *Chem. Biodivers.*, 2008; 5: 2140–2155

- [34] Heffeter P., Böck K., Atil B., Reza Hoda M.A., Körner W., Bartel C., Jungwirth U., Keppler B.K., Micksche M., Berger W., Koellensperger G.: Intracellular protein binding patterns of the anticancer ruthenium drugs KP1019 and KP1339. *J. Biol. Inorg. Chem.*, 2010; 15: 737–748
- [35] Hostetter A.A., Miranda M.L., DeRose V.J., McFarlane Holman K.L.: Ru binding to RNA following treatment with the antimetastatic prodrug NAMI-A in *Saccharomyces cerevisiae* and in vitro. *J. Biol. Inorg. Chem.*, 2011; 16: 1177–1185
- [36] Kapitza S., Pongratz M., Jakupec M.A., Heffeter P., Berger W., Lackinger L., Keppler B.K., Marian B.: Heterocyclic complexes of ruthenium(III) induce apoptosis in colorectal carcinoma cells. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 2005; 131: 101–110
- [37] Kratz F., Hartmann M., Keppler B., Messori L.: The binding properties of two antitumor ruthenium(III) complexes to apotransferrin. *J. Biol. Chem.*, 1994; 269: 2581–2588
- [38] Kratz F., Keppler B.K., Messori L., Smith C., Baker E.N.: Protein-binding properties of two antitumor Ru(III) complexes to human apotransferrin and apolactoferrin. *Met. Based Drugs*, 1994; 1: 169–173
- [39] Krøigård A.B., Larsen M.J., Lænkholm A.V., Knoop A.S., Jensen J.D., Bak M., Mollenhauer J., Thomassen M., Kruse T.A.: Identification of metastasis driver genes by massive parallel sequencing of successive steps of breast cancer progression. *PLoS One*, 2018; 13: e0189887
- [40] Lazarević T., Rilak A., Bugarčić Z.D.: Platinum, palladium, gold and ruthenium complexes as anticancer agents: Current clinical uses, cytotoxicity studies and future perspectives. *Eur. J. Med. Chem.*, 2017; 142: 8–31
- [41] Liang J., Levina A., Jia J., Kappen P., Glover C., Johannessen B., Lay P.A.: Reactivity and transformation of antimetastatic and cytotoxic rhodium(III)-dimethyl sulfoxide complexes in biological fluids: An XAS speciation study. *Inorg. Chem.*, 2019; 58: 4880–4893
- [42] Luck A.N., Mason A.B.: Structure and dynamics of drug carriers and their interaction with cellular receptors: Focus on serum transferrin. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2013; 65: 1012–1019
- [43] Meier-Menches S.M., Gerner C., Berger W., Hartinger C.G., Keppler B.K.: Structure-activity relationships for ruthenium and osmium anticancer agents-towards clinical development. *Chem. Soc. Rev.*, 2018; 47: 909–928
- [44] Merlino A.: Interactions between proteins and Ru compounds of medicinal interest: A structural perspective. *Coordin. Chem. Rev.*, 2016; 326: 111–134
- [45] Messori L., Merlino A.: Ruthenium metalation of proteins: the X-ray structure of the complex formed between NAMI-A and hen egg white lysozyme. *Dalton Trans.*, 2014; 43: 6128–6131
- [46] Novohradský V., Bergamo A., Cocchietto M., Zajac J., Brabec V., Mestroni G., Sava G.: Influence of the binding of reduced NAMI-A to human serum albumin on the pharmacokinetics and biological activity. *Dalton Trans.*, 2015; 44: 1905–1913
- [47] Nowakowska A., Tarasiuk J.: Procesy inwazji i przerzutowania komórek opornych na chemioterapię. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2017; 71: 380–397
- [48] Pelillo C., Mollica H., Eble J.A., Grosche J., Herzog L., Codan B., Sava G., Bergamo A.J.: Inhibition of adhesion, migration and of $\alpha 5\beta 1$ integrin in the HCT-116 colorectal cancer cells treated with the ruthenium drug NAMI-A. *J. Inorg. Biochem.*, 2016; 160: 225–235
- [49] Peti W., Pieper T., Sommer M., Keppler B.K., Giester G.: Synthesis of tumor-inhibiting complex salts containing the anion tetrachlorobis(indazole)ruthenate(III) and crystal structure of the tetraphenylphosphonium salt. *Eur. J. Inorg. Chem.*, 1999; 1551–1555
- [50] Pillozzi S., Gasparoli L., Stefanini M., Ristori M., D'Amico M., Alessio E., Scaletti F., Becchetti A., Arcangeli A., Messori L.: NAMI-A is highly cytotoxic toward leukaemia cell lines: evidence of inhibition of KCa 3.1 channels. *Dalton Trans.*, 2014; 43: 12150–12155
- [51] Popper H.H.: Progression and metastasis of lung cancer. *Cancer Metastasis Rev.*, 2016; 35: 75–91
- [52] Rademaker-Lakhai J.M., van den Bongard D., Plum D., Beijnen J.H., Schellens J.H.: A Phase I and pharmacological study with imidazolium-trans-DMSO-imidazole tetrachlororuthenate, a novel ruthenium anticancer agent. *Clin. Cancer Res.*, 2004; 10: 3717–3727
- [53] Rancoule C., Guy J.B., Vallard A., Ben Mrad M., Rehaïlia A., Magné N.: 50th anniversary of cisplatin. *Bull. Cancer*, 2017; 104: 167–176
- [54] Romero-Canelón I., Sadler P.J.: Next-generation metal anticancer complexes: multitargeting via redox modulation. *Inorg. Chem.*, 2013; 52: 12276–12291
- [55] Schoenhacker-Alte B., Mohr T., Pirker C., Kryeziu K., Kuhn P.S., Buck A., Hofmann T., Gerner C., Hermann G., Koellensperger G., Keppler B.K., Berger W., Heffeter P.: Sensitivity towards the GRP78 inhibitor KP1339/IT-139 is characterized by apoptosis induction via caspase 8 upon disruption of ER homeostasis. *Cancer Lett.*, 2017; 404: 79–88
- [56] Seelig M.H., Berger M.R., Keppler B.K.: Antineoplastic activity of three ruthenium derivatives against chemically induced colorectal carcinoma in rats. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 1992; 118: 195–200
- [57] Singh V., Azad G.K., Mandal P., Reddy M.A., Tomar R.S.: Anticancer drug KP1019 modulates epigenetics and induces DNA damage response in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEBS Lett.*, 2014; 588: 1044–1052
- [58] Śliwińska-Hill U., Celmer J.: Związki koordynacyjne rutenu jako leki w nowoczesnej terapii przeciwnowotworowej. *Nowotwory*, 2015; 65: 517–528
- [59] Thota S., Rodrigues D.A., Crans D.C., Barreiro E.J.: Ru(II) compounds: Next-generation anticancer metallotherapeutics? *J. Med. Chem.*, 2018; 61: 5805–5821
- [60] Webb M.L., Walsby C.J.: Albumin binding and ligand-exchange processes of the Ru(III) anticancer agent NAMI-A and its bis-DMSO analogue determined by ENDOR spectroscopy. *Dalton Trans.*, 2015; 44: 17482–17493
- [61] Winkler G.C., Barle E.L., Galati G., Kluwe W.M.: Functional differentiation of cytotoxic cancer drugs and targeted cancer therapeutics. *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, 2014; 70: 46–53
- [62] Yeung K.T., Yang J.: Epithelial-mesenchymal transition in tumor metastasis. *Mol. Oncol.*, 2017; 11: 28–39

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.