

Metalofármacos à Base de Rutênio: Uma Busca por Complexos Metálicos Bioativos de Baixa Toxicidade

Ruthenium-Based Metalodrugs: A Search for Low Toxic Bioactive Metallic Complexes

Nayara Cely Ferreira Coêlho,^a  Maria Helena Pires Souza de Andrade,^a  Victor Branco de Sousa,^a Wagner Eduardo da Silva,^a  Mônica Freire Belian^{a,*} 

^aUniversidade Federal de Rural de Pernambuco, Departamento de Química, Av. Dom Manoel de Medeiros S/N, CEP 52171-900, Recife-PE, Brasil.

*E-mail: mfbelian@gmail.com
monica.freirebelian@ufrpe.br

Recebido em: 26 de Abril de 2022

Aceito em: 1 de Setembro de 2022

Publicado online: 26 de Outubro de 2022

Cancer therapy still faces great challenges in terms of effectiveness, toxicological aspects, and in relation to the triggering factors of resistance, that is, the evolutionary frame of the disease still requires numerous research that solves several problems pertinent to its treatment, thus enabling the improvement in the quality of life of bearers of benign or malignant tumors. For this reason, the development of drugs capable of combating this disease is always presented as a highly important alternative, since currently, available chemotherapeutic agents trigger a series of side effects and consequent resistance phenomena such as MultiDrug Resistance (MDR). In this context, ruthenium complexes emerge as new therapeutic proposals with a favorable toxicological aspect (less toxicity) when compared to other metallopharmaceuticals with the same functionality. Therefore, this review article presents historical aspects of ruthenium complexes, the main studied examples that entered in clinical phase, their biological mechanisms (antitumor and antimetastatic actions), and perspectives.

Keywords: Cancer; ruthenium complexes; antitumor drugs; antimetastatic mechanism.

1. Introdução

O câncer pode ser definido como um conjunto de mais de 200 tipos de neoplasias malignas, e, é caracterizado pelo crescimento desordenado de células mutantes, originadas de “alterações” no DNA nuclear (nDNA) ou mitocondrial (mtDNA).¹⁻³ O aumento da incidência desta patologia no mundo está correlacionado com alguns hábitos e condições da “vida moderna” como o tabagismo, alcoolismo, obesidade, sedentarismo, estresse, poluição, exposição à radiação e compostos tóxicos; além dos fatores genéticos. O câncer pode iniciar em diferentes tipos de células, sendo estas as que definirão a classificação da neoplasia maligna, por exemplo, quando iniciadas em tecidos epiteliais, como pele ou mucosas, são denominadas, carcinomas; se o processo de mutação ocorre em tecidos conjuntivos, como ossos, músculo e cartilagem, são chamados sarcomas. Outra característica que diferencia os diversos tipos de câncer, é a fugacidade da multiplicação das células e a capacidade de invadir tecidos e órgãos vizinhos ou distantes, processo denominado metástase.^{1,4,5}

Segundo dados da Organização Mundial de Saúde (OMS), o câncer é responsável por uma em cada seis mortes no mundo.^{4,5} Em 2020, a *International Agency for Research on Cancer – IARC* – apontou que ocorreram 19,3 milhões novos casos de câncer no mundo, com um total de 9,9 milhões de óbitos.⁶ Segundo essa projeção, os números devem subir para 29 milhões em 2040, caracterizando um aumento de 63% de novos casos. Segundo o Instituto Nacional do Câncer – INCA – estimou-se para cada ano do triênio 2020-2022 no Brasil, 625 mil casos novos de câncer, o que configura um problema cada vez maior de saúde pública (Figura 1).¹

Em decorrência dos variados tipos de câncer, incidência e grau de avanço da doença, diversas formas de tratamento são utilizadas, sejam curativas ou paliativas, como cirurgia, radioterapia, imunoterapia, terapia fotodinâmica e quimioterapia.⁷ Segundo os métodos citados, um terço dos pacientes consegue ser curado, caso o tumor não tenha sofrido metástase. Obstante a isso, nos demais casos, o câncer é caracterizado pelo desenvolvimento precoce de micrometástase, mostrando a grande necessidade de um tratamento sistemático que pode ser efetuado, em cerca de 60-70% dos casos, com a quimioterapia, mesmo com a maioria dos quimioterápicos agindo de forma não-específica. Essa ação inespecífica faz com que o uso de agentes quimioterápicos seja um fator limitante, principalmente em células de crescimento rápido, como as gastrointestinais, capilares e as do sistema imunológico.



Figura 1. Relações percentuais entre população e casos de câncer no Brasil com relação ao mundo; e estimativas de casos de câncer no Brasil por ano, entre os anos 2020-2022

Isto explica a maior parte dos severos efeitos colaterais oriundos da quimioterapia antineoplásica, como: nefrotoxicidade, neurotoxicidade, mielossupressão, ototoxicidade, náuseas, perda de cabelo e susceptibilidade maior às infecções.⁸ Outro fator preocupante da utilização atual dos quimioterápicos é o fenômeno de resistência a múltiplas drogas (do inglês, *MultiDrug resistance* – MDR), principalmente nos cânceres metastáticos. Essa resistência pode ser observada no primeiro ciclo de tratamento (resistência intrínseca) ou após o primeiro ciclo de tratamento (resistência adquirida). A resistência a múltiplas drogas é ausência da resposta ao tratamento quimioterápico mesmo com a troca de medicamentos estruturalmente não correlacionados, ocasionando por exemplo, uma superexpressão de proteínas da superfamília ABC (Proteínas ATP-dependente) desencadeando um maior efluxo celular, diminuindo a dose efetiva de compostos que deveriam atuar no interior das células.

Em decorrência disso, a busca por novos compostos que apresentem a capacidade de contornar o fenômeno MDR e apresentar efeitos terapêuticos desejados se faz urgente, e neste contexto, incluímos os candidatos à fármacos antitumorais baseados em rutênio. Os compostos de rutênio apresentam propriedades físico-químicas, como por exemplo, o número de oxidação (-2 a +8) e coordenação (4 e 6); que conferem a esta classe de compostos uma série de aplicações tecnológicas (catalisadores e dispositivos)^{9,10} e biológicas (agentes antitumorais e antibióticos).¹¹⁻¹³ No que tange às aplicações biológicas, apesar do rutênio apresentar menor reatividade quando comparado ao ferro, principalmente quanto as reações de substituição em meio biológico, ambos apresentam similaridades quanto às vias de biodistribuição, metabolização e excreção.^{14,15} Apesar disso e em termos fundamentais, os compostos de rutênio são mais lábeis que os de ferro; e o metal/íon rutênio é mais mole que o metal/íon ferro. Como consequência disso, as interações químicas dos compostos de rutênio, em ambientes biológicos, tendem a ser com espécies tipicamente moles

ou macias (bases de *Pearson*), enquanto os compostos de ferro interagem com sítios mais duros.

Os primeiros estudos dos compostos de rutênio atuando como agentes antitumorais teve um aspecto peculiar. De forma dogmática, pesquisadores acreditavam que compostos metálicos apresentavam atividade antitumoral quando as taxas de substituição nucleofílica de moléculas de água eram comparáveis a cisplatina (CDDP – *cis*-diaminodicloroplatinato(II)).^{11,16-18} Em 30 anos, após a síntese e estudo da atividade biológica do “*New Anticancer Metastasis Inhibitor*” – $[\text{ImH}^+]\{\text{trans-}[\text{RuCl}_4(\text{Ind})_2]\}$, conhecido como NAMI-A,¹⁹ os autores desmistificaram esse “dogma”, e atualmente já se é sabido que essas similaridades não são requisitos para a obtenção de complexos bioativos. Alguns obstáculos para o desenvolvimento de fármacos de rutênio têm sido ultrapassados, como a toxicidade e biodisponibilidade desses compostos. Por esta razão, ter o conhecimento das principais estratégias para o “*design*” de compostos de rutênio com atividade antitumoral torna-se importante no desenvolvimento de novos compostos bioativos. Diante disso, este artigo de revisão apresenta aspectos históricos acerca do desenvolvimento de complexos de rutênio bioativos, principais complexos estudados que entraram em fase clínica, mecanismos biológicos e perspectivas futuras para essa classe de compostos que apresentam potenciais ações antitumorais e antimetastáticas.

2. Comportamento Antitumoral dos Compostos de Rutênio: um Breve Histórico

Um dos primeiros complexos de rutênio com ação antitumoral relatados na literatura foi o composto *facial*-triaminotriclororutênio(3+) – *fac*- $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_3\text{Cl}_3]$, em 1980. Em uma tentativa de comparar os resultados obtidos com a CDDP – *cis*- $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$, considerando uma pseudo-similaridade estrutural (Figura 2); Clarke *et al.*²⁰ realizaram ensaios de atividade antitumoral do complexo de rutênio(3+)

frente a uma linhagem de câncer mamário obtendo bons resultados. Houve dificuldades em estabilizar o complexo em solução aquosa, motivando assim, sua descontinuidade. Esses estudos basearam-se em experimentos datados em 1976, onde o complexo de rutênio(3+) foi relatado como causador do crescimento filamentosos de *E. coli*, e indicativo do efeito inibidor na divisão celular similarmente à CDDP.²¹

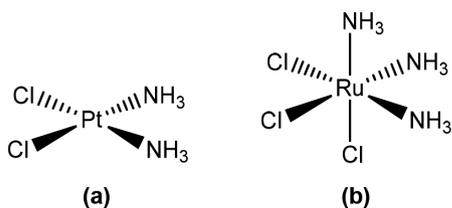


Figura 2. Estruturas químicas dos complexos (a) *cis*-[Pt(NH₃)₂Cl₂] e (b) *fac*-[Ru(NH₃)₃Cl₃]

Como resposta a esta atividade e na perspectiva em desenvolver outros complexos de rutênio(2+), similarmente a Pt(2+), em 1984, Mestroni *et al.* desenvolveram o complexo *cis*-[RuCl₂(dms_o)₄], dms_o = dimetilsulfóxido.²² Em ensaios biológicos, utilizando o modelo animal como portador de tumor sólido metastático, o complexo de rutênio apresentou baixa citotoxicidade, atividade antitumoral (*in vivo*) e propriedades antimetastáticas.

Em 1988, o complexo *trans*-[RuCl₂(dms_o)₄] foi avaliado quanto a sua atividade antitumoral, com o intuito de verificar se o isômero apresentaria maior atividade quando comparado ao *cis*-[RuCl₂(dms_o)₄]. Em experimentos realizados em tumores primários foi observado que a cisplatina era mais ativa na redução do tumor, porém o complexo *trans*-[RuCl₂(dms_o)₄] demonstrou atividade mais seletiva contra metástases. Esse resultado também foi observado em outros complexos de rutênio, como os sintetizados por Keppler *et al.*, ainda na década de 80.²³ Os complexos avaliados foram isoestruturais de Ru³⁺, o [ImH⁺]{*trans*-[RuCl₄(Im)₂]} (ICR, Im = imidazol) e o [IndH⁺]{*trans*-[RuCl₄(Ind)₂]} (Ind = indazol). Os complexos mostraram-se ativos contra uma série de modelos tumorais, em especial ao tumor colorretal, o qual é resistente à complexos de platina. Estes resultados serviram de arcabouço para a premissa que os complexos de rutênio poderiam ser eficazes contra tumores resistentes aos complexos de platina.

No ano de 1990 iniciou-se uma corrida na busca de novos compostos biologicamente ativos e com maior solubilidade em água, o que culminou no desenvolvimento dos complexos denominados “*New Anti-tumor Metastasis Inhibitor*”, conhecidos como NAMI e NAMI-A (Figura 3a e 3b). O [*trans*-RuCl₄(1H-imidazol)(DMSO-S)] de imidazólio ou NAMI-A apresentou relevantes propriedades como solubilidade em água e antitumorais,²⁴ sendo altamente bioativo contra linhagens de carcinoma pulmonar de Lewis, melanoma B16 e carcinoma mamário MCA. Além da almejada propriedade antitumoral, essa classe de compostos apresentou efeito aditivo sob essas linhagens no que tange o efeito antimetastático.²⁵ O NAMI-A foi o primeiro complexo

a base de rutênio com atividade antineoplásica a entrar em fase de testes clínicos.

O NAMI-A apresentou vários recursos que podem ser relevantes para inibir processos metastáticos *in vivo*, como: (i) inibição da invasão de células tumorais e de metaloproteínas de matriz; (ii) regulação positiva da adesão e regulação negativa da atividade angiogênica; (iii) inibição de ERK1/2 e ativação de caspase; e (iv) forte interação com proteínas, incluindo albumina, transferrina e integrinas. Em testes clínicos de fase II, pacientes receberam NAMI-A via intravenosa por 3 h durante 5 dias e a cada 3 semanas. Foram observados alguns efeitos colaterais após a administração do NAMI-A, incluindo-se anemia, linfopenia, fadiga, anorexia, estomatite, edema periférico, alopecia, náuseas, diarreia, zumbido e flebite no local da infusão.²⁶⁻²⁸ Entretanto, os testes clínicos do NAMI-A foram descontinuados após a conclusão da fase II, pois apesar da baixa citotoxicidade e toxicidade em animais, os experimentos realizados em humanos mostrou um perfil potencialmente tóxico.

Alguns resultados acerca da atividade antitumoral dos complexos de rutênio correlacionam a eficácia à geometria octaédrica, a qual é antagonista à geometria quadrado plano dos complexos de Pt²⁺, justificando que os complexos de Ru²⁺ e Ru³⁺ apresentam outras formas de atuação quando comparados aos complexos de platina, os quais apresentam mecanismo quase que exclusivo em se ligar ao nDNA, causando a apoptose celular.²⁹ Os mecanismos de atuação dos complexos de rutênio incluem a regulação do ciclo celular, ocasionando o acúmulo de gradiente de células em G2, que é o intervalo entre a duplicação do nDNA e o início da divisão celular (mitose); e, a superexpressão de matriz extracelular em torno do tumor, a qual é capaz de evitar que células cancerígenas migrem para tecidos próximos e vasos sanguíneos.³⁰

Outro complexo de rutênio que também ganhou destaque foi KP1019 (Figura 3c), o qual se mostrou promissor frente alguns tipos de tumores em modelos animais. O [*trans*-RuCl₄(1H-indazol)₂] de indazólio ou KP1019 mostrou-se mais ativo em células de câncer primárias, induzindo as células à apoptose, distinguindo-se do NAMI-A que apresenta um maior efeito antimetastático.³¹ O mecanismo mais aceito para o KP1019 é que a morte da célula ocorre através da interferência no transporte de elétrons. Esta interferência causa uma despolarização da membrana mitocondrial e ativa as caspases-3 (enzimas responsáveis pelo processo apoptótico),²⁶ pois a apoptose provocada por KP1019 é independente do estado da p53 (proteína que desencadeia a supressão da carcinogênese) das células do tumor, sugerindo que quebras na cadeia do nDNA, não são um mecanismo dominante para este complexo.

Além disso, a formação de espécies reativas de oxigênio em linhagens de células tumorais foi relatada como mecanismo de atuação do KP1019, e isto pode contribuir, eventualmente, a danos no nDNA, ainda que de forma branda. Outro fator importante a se destacar quanto à

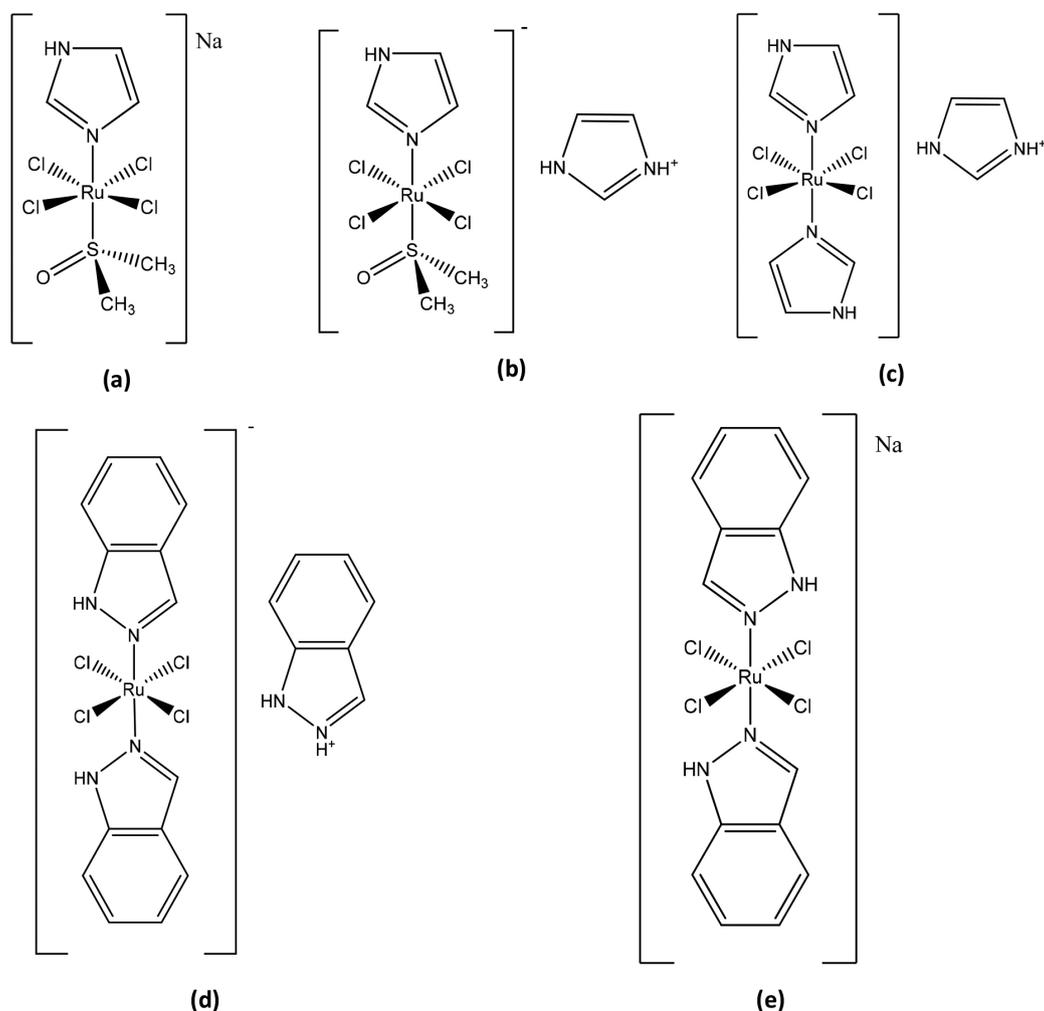


Figura 3. Estruturas químicas dos complexos de rutênio estudados na literatura: (a) NAMI, (b) NAMI-A®, (c) KP418, (d) KP1019, e (e) NKP1339

utilização do KP1019 é que ensaios *in vitro* demonstraram que além de atuar em tumores humanos de forma citotóxica, este complexo apresenta atividade contra células resistentes a outros agentes quimioterápicos convencionais, como os complexos de platina.^{32,33}

O KP1019 passou por testes clínicos fase II, em um estudo de 8 pacientes com tumores sólidos avançados e refratários, incluindo carcinomas colorretais, endometriais, melanômicos e de bexiga.³⁴ Apesar da eficiência contra tumores sólidos, os estudos clínicos do KP1019 foram descontinuados devido à sua solubilidade limitada, e em decorrência disso, seu análogo contendo o sódio como contra-íon, NKP1339, [*trans*-RuCl₄(1H-indazol)₂] de sódio – Figura 3d, foi desenvolvido e também entrou em ensaios clínicos após ter demonstrado eficiência em ensaios *in vitro* contra o carcinoma de cólon humano resistente à cisplatina.³⁵ Os ensaios clínicos fase I do NKP1339 foram concluídos, e atualmente, encontra-se em processo de aprovação os ensaios clínicos fase II.³⁶⁻³⁸

Numa tentativa de melhorar os efeitos toxicológicos apresentados pelo NAMI-A, foram desenvolvidos sistemas análogos, cuja principal estratégia consistiu na substituição

do DMSO por ligantes imidazólicos, como o [*trans*-bis-imidazoltetraclororutenato(3+)] de imidazólio, codificado como KP418. Apesar de bem-sucedida quanto ao efeito antitumoral do KP418 quando comparado ao NAMI-A, o complexo ainda não entrou em fase clínica. Outros complexos de rutênio derivados do bis-benzimidazol,³⁵ também foram analisados *in vitro* e comparados com o NAMI-A, frente a linhagens celulares. Apesar do amplo espectro antiproliferativo, sendo capaz de induzir apoptose através da produção de superóxido, os resultados forneceram bases para melhorar a estrutura-atividade dos complexos de rutênio.

Complexos organometálicos de Ru(2+) também foram estudados e apresentaram propriedades citotóxicas e antitumorais em estudos pré-clínicos. Os complexos RAPTA-T - [Ru(Cl)₂(η⁶-p-cimeno)(pta)] - e RAPTA-C - [Ru(Cl)₂(η⁶-tolueno)(pta)] – Figura 4, os quais consistem em um átomo central de Ru(2+) complexado a um grupo areno, dois cloretos, e um ligante pta (1,3,5-triaza-7-fosfadamantano); apresentaram solubilidade aquosa biologicamente favorável devido à natureza anfífila de seus ligantes.^{37,38}

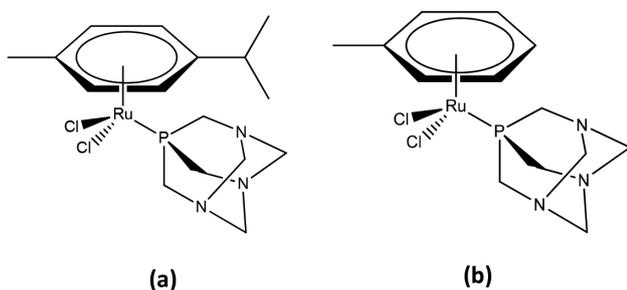


Figura 4. Estruturas químicas dos complexos RAPTA-C (a) e RAPTA-T (b)

Segundo *Allardyce e Dyson* (2001),¹¹ os complexos “RAPTA” geraram apoptose em linhagens tumorais ao reagirem com proteínas histonas de cromatina e com o nDNA, em ensaios *in vitro*. Em um de seus estudos, foi observado que o RAPTA-C induziu apoptose, em concentrações nanomolares, de uma linhagem celular derivada de um neuroblastoma humano que havia metástase para a medula óssea, denominada de células de neuroblastoma SK-N-SH. Inicialmente, o composto [Ru(η^6 -p-cimeno)Cl₂(pta)] - RAPTA-C se mostrou eficaz na redução do crescimento de metástases pulmonares em camundongos afetados por carcinoma mamário,¹³ e, posteriormente foi observado efeitos anticâncer em tumores primários por indução de apoptose em células de carcinoma ascítico de *Ehrlich*.³⁹ Além disso, em estudos pré-clínicos foi demonstrado que o RAPTA-C é capaz de reduzir o crescimento de carcinomas ovarianos e colorretais, utilizando uma dose relativamente baixa por dia de 0,2 mg kg⁻¹.⁴⁰ Sendo assim, embora o RAPTA-C possua baixa citotoxicidade *in vitro*, mostra seletividade para tumores *in vivo*.^{37,38} No caso do RAPTA-T foi observada inibição, *in vitro*, de etapas do processo metastático, como o desprendimento do tumor primário, a capacidade de migrar, invadir e aderir a um novo órgão; sendo esse efeito aparentemente mediado por interações com componentes da matriz extracelular.⁴¹ Em estudo realizado por Bergamo *et al.* (2008)¹² mostrou que o RAPTA-T apresenta especificidade do tipo de célula, caracterizada por um efeito mais pronunciado nas células tumorais, ao invés de células normais. Além disso, esses efeitos foram mais pronunciados quando as células MDA-MB-231 altamente invasivas são usadas, em comparação com as células não invasivas MCF-7. Nesse caso, observa-se que o RAPTA-T é mais seletivo para células tumorais com maior inclinação para invadir e metastatizar. Posterior aos testes *in vitro*, foram validados os ensaios *in vivo* contra o carcinoma mamário com metástase espontânea. Neste sentido, o tratamento com RAPTA-T foi eficaz, resultando na redução da formação de metástases pulmonares desses tumores.⁴²

Nos últimos vinte anos, outros potenciais agentes antitumorais baseados em rutênio foram revelados.⁴³⁻⁵⁵ Baseando-se em princípios de atuação desses fármacos vários desenhos de protótipos vêm sendo publicados, assim como elucidações mecanísticas, uma vez que estes

compostos agem potencialmente em células resistentes a fármacos de platina (Figura 5).

3. Mecanismos de Ação dos Complexos de Rutênio

A atividade farmacológica dos complexos metálicos depende da natureza do metal ou do ligante, ou de ambos (efeito somativo ou sinérgico).⁵⁶ Neste contexto, os complexos de rutênio têm atraído um interesse considerável devido as suas atividades anticancerígenas, e, em decorrência disso, a elucidação de mecanismos de ação são fundamentais para o desenho de novos compostos.⁵⁷

Os complexos de rutênio após administrados são estabilizados através de transportadores proteicos, como albumina e transferrina sérica. Essas proteínas são utilizadas por mamíferos para “solubilizar” e transportar íons ferro, reduzindo assim a sua toxicidade quando em excesso no meio biológico.⁵⁸ A transferrina sérica é responsável pelo transporte ativo de Fe³⁺ no meio intracelular, e devido, as “semelhanças” bioquímicas entre o Fe³⁺ e Ru³⁺, é possível admitir a entrada do rutênio na célula via esse mecanismo. Apesar disso, quando se trata de captação de rutênio pela célula além do transporte ativo, tem-se também a difusão passiva e endocitose. Após a entrada na célula o rutênio pode interagir com o núcleo, através de ligações coordenativas com ácidos nucleicos e proteínas, via múltiplos modos de ligação.^{12,47} Embora o núcleo seja relatado como alvo para complexos de rutênio, alguns trabalhos citam outros mecanismos de ação dessa classe de compostos como, as mitocôndrias,⁵⁹⁻⁷² bloqueio do ciclo celular,⁷³ inibição de quinases⁷⁴ e topoisomerases.⁷⁵ Apesar disso, as mitocôndrias reservam as principais apostas mecanísticas para a atividade antitumoral desses compostos, uma vez que os complexos de rutênio apresentam mecanismos pró-apoptóticos quando interage com a referida organela, como, a geração de espécies reativas de oxigênio (ERO), despolarização do potencial de membrana mitocondrial, ativação da família de genes Bcl-2 e de membros das caspases.⁵⁹

A principal função mitocondrial é a respiração celular através do fornecimento de adenosina trifosfato (ATP) pelo processo de fosforilação oxidativa. Apesar disso, outros processos bioquímicos devem ser destacados, incluindo a modulação na concentração de cálcio intracelular, regulação da morte celular programada (apoptose), e fonte de geração de radicais livres.⁶¹⁻⁶⁵ Consequentemente, a disfunção mitocondrial contribui para uma série de doenças humanas, e em decorrência disso, nos últimos anos, os complexos de rutênio têm sido desenvolvidos como potenciais manipuladores da função mitocondrial.⁶⁶⁻⁷³

No que tange o mecanismo via ação sob topoisomerases (topo), cabe salientar que essas enzimas são capazes de reduzir a tensão durante o processo de replicação, transcrição e recombinação do nDNA; minimizam os processos de segregação cromossômica no ciclo celular e são ativadas

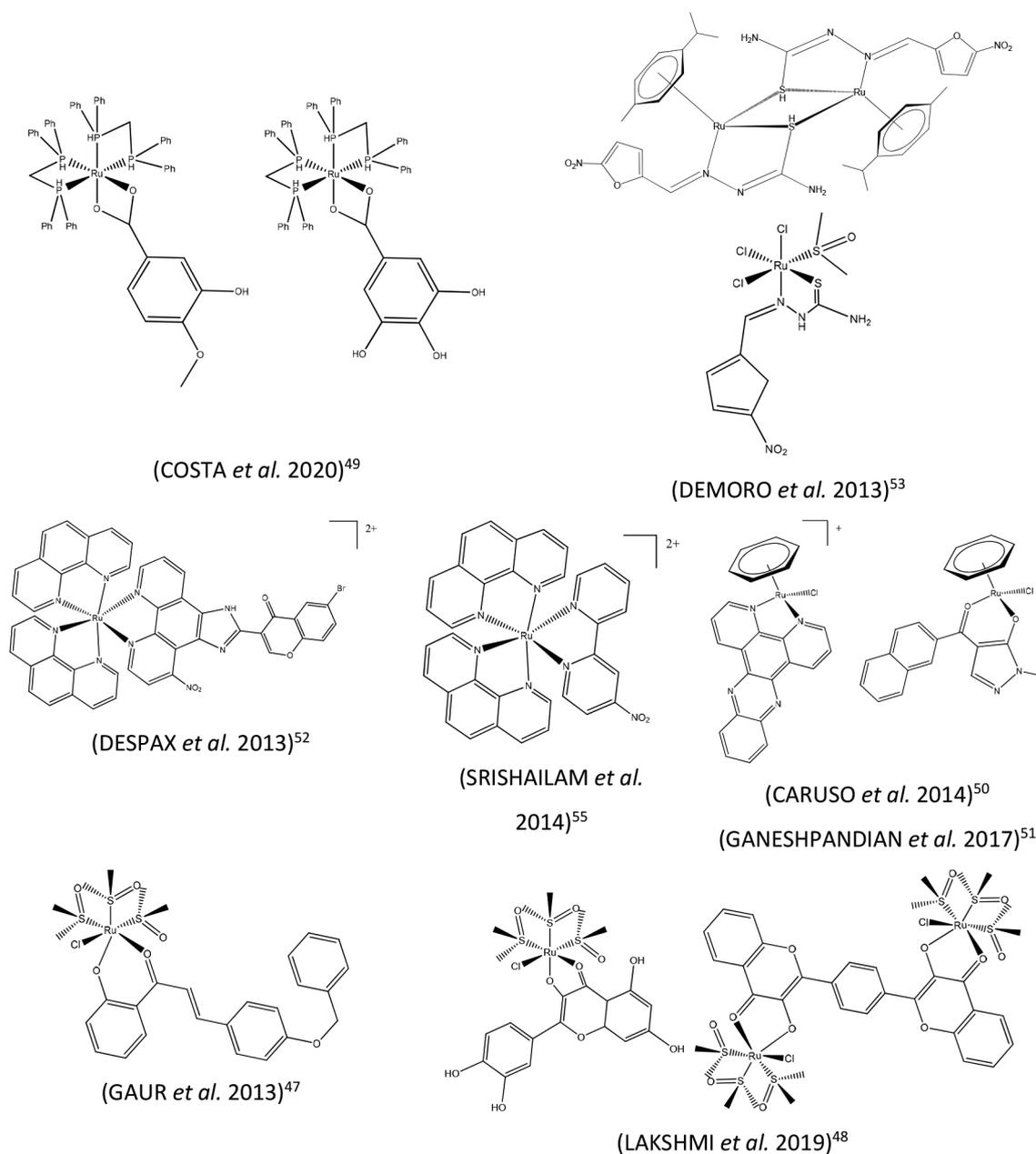


Figura 5. Estruturas químicas dos complexos de rutênio estudados nos últimos anos

durante o crescimento da célula tumoral.^{76,77} Dessa forma, a topo que tem capacidade de clivagem de uma fita (topo I) ou duas fitas (topo II) do nDNA, são potenciais alvos para a ação dos complexos de rutênio.⁷⁸ Dentre as topoisomerasas, a topo IB é a mais relatada como alvo dos complexos de rutênio, os quais possuem ação como inibidores catalíticos e de veneno de catalisadores.⁷⁹ Dessa forma, os complexos de rutênio interferem na ligação do nDNA com a topo, dificultando a proliferação celular, podendo também interferir na dinâmica de processos metastáticos, ou seja, nos processos de formação tumoral em regiões diferentes da origem do tumor.⁸⁰

Além dos mecanismos de ação desses complexos, outros processos dinâmicos bioquímicos devem ser relatados quando se avaliam a toxicidade e biodisponibilidade dessa

classe de compostos. O transporte através da membrana celular e suas características condicionam a expressão da toxidez dos compostos ao determinar seu tempo de permanência no interior celular. Estas características dependem de diversos fatores, entre os quais se destacam a hidro e lipossolubilidade, massa molecular e a existência de mecanismos específicos de transporte.⁵⁵ Os complexos de rutênio usam facilitadores transmembranas que são proteínas transportadoras específicas, como é o caso, anteriormente citado, da transferrina.

O fator de angiogênese, fenômeno de crescimento de novos vasos sanguíneos; em células tumorais é superexpressado, e, em decorrência disso, essas células apresentam maior necessidade de captação de ferro e com isso, ocorre um aumento de receptores de transferrina

na membrana celular.⁵⁸ Esse aumento colabora com a ação antitumoral dos complexos de rutênio e com baixas expressões de toxicidade advindas da interação desses compostos com células normais. Estudos realizados com compostos de rutênio radiomarcados corroboram com a confirmação da baixa toxicidade e efeitos colaterais apresentados por essa classe de complexos quando comparados aos complexos de platina. Segundo *Allardyce* e *Dyson* (2001),¹¹ esses experimentos foram realizados *in vivo*, e, os complexos de rutênio apresentaram uma bioacumulação de até dozes vezes maior em células tumorais em comparação com as células normais, indicando uma maior captação e especificidade na captação desse metal por células tumorais.

Outra dinâmica favorável acerca da biodisponibilidade de espécies potencialmente ativas de rutênio no meio intracelular tumoral e normal, consiste nas condições de hipóxia celular, presente em células tumorais. Os complexos de rutênio apresentam uma dinâmica biológica entre o par redox – Ru(3+)/Ru(2+), que garante certa estabilidade na veiculação de espécies de Ru(3+), as quais são ativadas por redução intracelular à Ru(2+). As espécies bivalentes são as relatadas na literatura como as mais bioativas em tecidos alvos,^{11,20} e a manutenção do íon Ru(2+) é favorecida em condições de hipóxia presente em células tumorais, e devido a isso, os complexos de rutênio apresentam maior efeito apoptótico em células tumorais e menor toxicidade.¹⁸ Menos tóxico, simplesmente devido a bioatividade está relacionada à ativação por redução, o que significa que espécies trivalentes – Ru(3+) – vão circular no organismo como uma espécie de entidade química “pseudo-inerte” até alcançar regiões tumorais, onde em um pH inferior a 7 (ácido), esta espécie será biotransformada em entidade bioativa – Ru(2+).

As características dos compostos de rutênio como, ativação por redução, transporte através da transferrina, interações com o nDNA e mitocôndrias; e atividade antimetastáticas; embora individualmente proposta para algumas classes de compostos, tem garantido perspectivas no desenho de novas estruturas potencialmente bioativas e menos tóxicas, quando comparadas aos complexos de platina.

4. Perspectivas para Utilização de Complexos de Rutênio na Clínica Oncológica

O câncer era considerado a maior causa de mortalidade mundial até os anos 1970, apesar do advento tecnológico propiciando maior desenvolvimento nas pesquisas da biologia do câncer, atualmente é considerado a segunda maior causa de mortalidade mundial. A quimioterapia oncológica é comumente escolhida para o tratamento de neoplasias malignas, pois demonstrou uma ótima eficiência frente às inúmeras células tumorais humanas, mas traz consigo inúmeros efeitos colaterais devido à

baixa seletividade de atuação. Os interesses nas pesquisas e produções de protótipos para atuação oncológica vem crescendo nos últimos anos,⁵⁶⁻⁷⁸ principalmente nos compostos à base de rutênio(2+) e (3+) devido a sua versatilidade e possibilidade de se ligarem a uma sucessão de ligantes que tenham ou não atividade anticâncer descrita, além de possíveis receptores específicos da transferrina, de hormônios, o que pode torná-los uma série de compostos mais seletivos.

Alguns trabalhos entre os anos 1970 - 1990 resultaram em avanços significativos acerca do potencial uso de compostos de rutênio na terapêutica do câncer, dentre os “achados” da época destacam-se três pontos principais: (i) “Ativação por redução”, hipótese de mecanismo seletivo proposto inicialmente por *Michael Clarke*;¹⁸ (ii) Transportadores bioquímicos responsáveis pela entrega seletiva dos compostos de rutênio, prioritariamente a transferrina; como proposto inicialmente por *Som* e colaboradores;⁸⁰ e, (iii) Interações entre organelas e complexos de rutênio apresentam mecanismos diferenciados dos complexos de platina.^{81,82}

Uma perspectiva promissora para o tratamento oncológico é a utilização de compostos de rutênio(2+) na Terapia fotodinâmica (PDT), e vem ganhando destaque o composto *rac*-[Ru(dmb)₂(IP-3T)]Cl₂ (TLD 1433) – Figura 6, como o primeiro a entrar em testes clínicos. A PDT é uma terapia binária, em que primeiro o paciente recebe uma dose de um composto fotossensibilizador, e, em seguida, o tecido é exposto a radiação.⁸³ Esta metodologia está baseada no dano ao tecido ocasionando sua destruição através de radiação visível, devido a presença de um fotossensibilizador e oxigênio com mecanismos complexos. Encontram-se descritos na literatura duas vias de fotoprocessos do tipo I e II. No entanto, a PDT ainda não é utilizada como uma terapia oncológica convencional por apresentar limitações como a dependência de oxigênio, penetração insuficiente do fotossensibilizador e/ou da radiação visível, e como consequência, tornar o tecido alvo hipóxico.

O uso de estratégias não convencionais também tem se tornado alternativa no desenvolvimento de novos agentes antitumorais baseados em rutênio, principalmente o uso de ligantes bioativos. Com a finalidade de melhorar a seletividade do tratamento oncológico, inúmeras moléculas bioativas se tornaram alvo de pesquisas, como inibidores de enzimas P450, receptores hormonais, inibidor de PARP, entre outras biomoléculas capazes de amplificar o efeito antitumoral e seletividade frente ao câncer de mama.^{84,85} Dentre os processos bioquímicos para o surgimento do câncer de mama, o citocromo P450 ganha destaque por ser uma ampla família de proteínas capazes de metabolizar inúmeras substâncias endógenas e exógenas, mais especificamente a aromatase P450 (CYP19) tem a função de mediar a aromatização de estrogênio, logo, a inibição dessa enzima se torna deveras importante para o tratamento do câncer de mama. Em testes clínicos inibidores como Anastrozol (Arimidex®)⁸⁶ e Letrozol (Femara®)⁴⁷

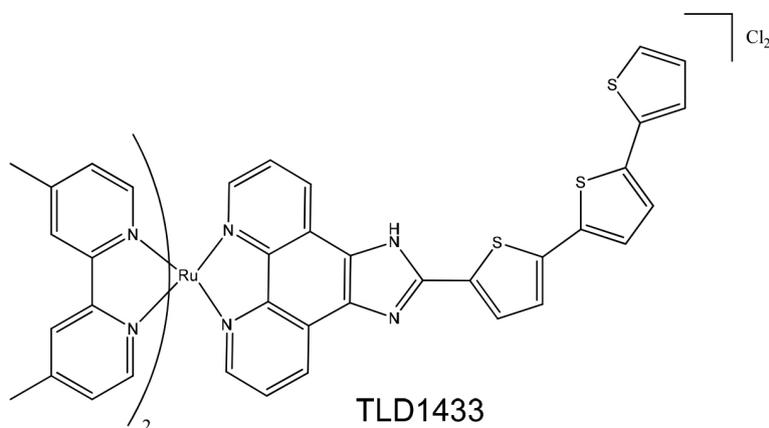


Figura 6. Estrutura química do complexo *rac*-[Ru(dmb)₂(IP-3T)]Cl₂

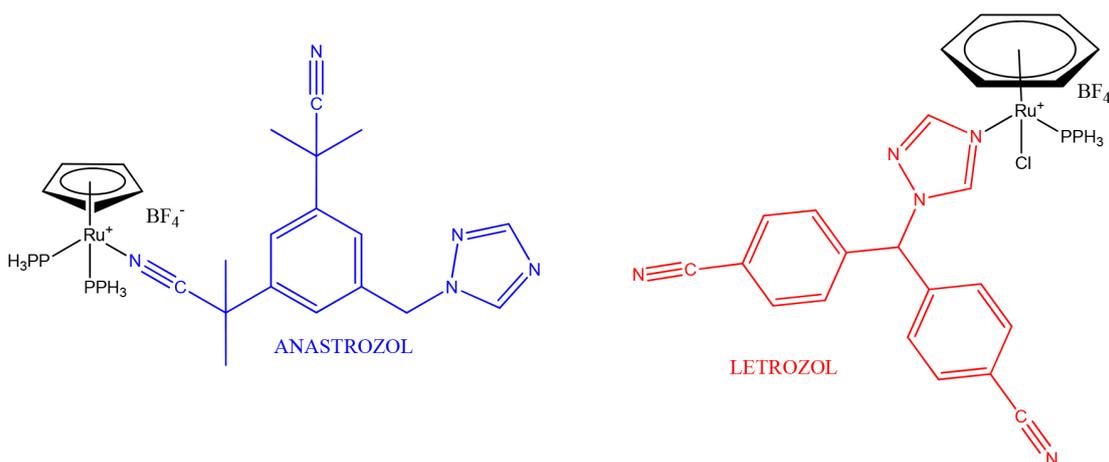


Figura 7. Estruturas químicas dos complexos de rutênio contendo como ligante Anastrozol e Letrozol

se demonstraram eficazes frente a fármacos comerciais (Figura 7). Os compostos de rutênio(2+) tendo como ligante o Anastrozol e o Letrozol, demonstraram excelentes resultados citotóxicos frente a células de câncer de mama e os testes *in vivo* não demonstrou toxicidade aparente.^{47,86}

Dentre os problemas já descritos relacionados ao tratamento do câncer é possível afirmar que a resistência a múltiplas drogas é a principal barreira para o sucesso das terapias anticâncer. A fim de driblar a consequência evolutiva das neoplasias malignas, principalmente as que já possuem resistência a fármacos convencionais baseados em platina, surgiu a perspectiva de utilização de compostos polinucleares. Essa perspectiva de planejamento de complexos polinucleares baseou-se na eficácia terapêutica (maior probabilidade em desencadear apoptose) ocasionada através de ligações coordenativas múltiplas entre as fitas do nDNA, onde os complexos apesar de administrados em menores doses, apresentavam um efeito aditivo ou sinérgico mediante a disponibilização de dois ou mais centros metálicos interagentes. Diante disso, alguns pesquisadores iniciaram estudos com sistemas polinucleares de rutênio, com valência mista, a citar a alta atividade antitumoral do complexo vermelho de rutênio (Figura 8).⁸⁷

Outros complexos binucleares, apresentados na literatura, baseiam-se no princípio de anterioridade, ou seja, o

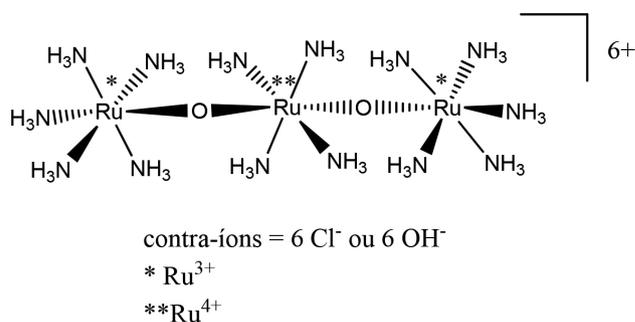


Figura 8. Estrutura química do vermelho de rutênio

sistema mononuclear apresenta atividade, logo, é esperada a atividade aditiva ou sinérgica com a multiplicação dos centros bioativos. Os sistemas binucleares derivado do NAMI-A, Na₂{*trans*-RuCl₄(Me₂SO)}₂{μ-[4,4'-(1,2-etanodi-il) bispiridina]} - Figura 9(a), Na₂{[RuCl₄(dmsO-S)}₂{μ-(4,4'-bipyridine)} - Figura 9(b), e (NH₄)[{RuCl₄(dmsO-S)}(μ-pyrazine){RuCl₃(dmsO-S)(dmsO-O)}] - Figura 9(c), foram submetidos a testes *in vivo* utilizando um modelo de carcinoma murino metastático (MCA), e demonstraram propriedades antimetastáticas, com redução de cerca de 85% em relação ao grupo controle, tornando estes complexos tão eficazes quanto o NAMI-A, em dosagens e efeitos adversos mais baixos.⁸⁸ O complexo (a) apresentou maior capacidade

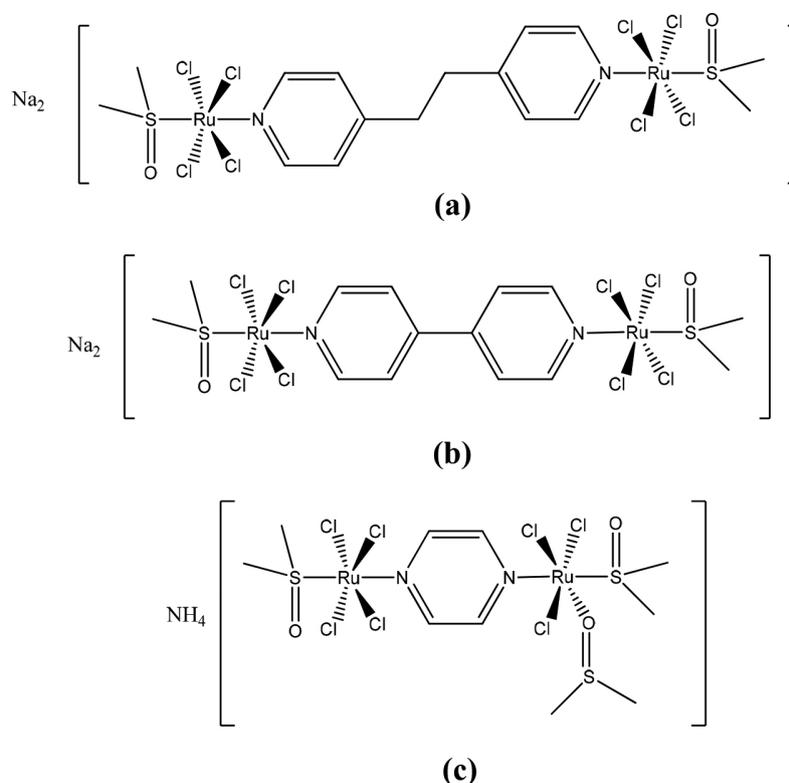


Figura 9. Estruturas químicas dos complexos $\text{Na}_2\{\text{trans-RuCl}_4(\text{Me}_2\text{SO})_2\}_2\{\mu\text{-}[4,4'\text{-}(1,2\text{-etanodi-il})\text{bispiridina}]\}$ (a), $\text{Na}_2\{[\text{RuCl}_4(\text{dmsO-S})]_2\{\mu\text{-}(4,4'\text{-bipyridine})\}\}$ (b), e $(\text{NH}_4)\{[\text{RuCl}_4(\text{dmsO-S})](\mu\text{-pyrazine})\{\text{RuCl}_3(\text{dmsO-S})(\text{dmsO-O})\}\}$ (c)

antimetastática com até 95% de redução, sugerindo que a estratégia de síntese de sistemas multinucleares pode ser adequada para o surgimento de novos complexos mais bioativos.

Outras considerações acerca do desenvolvimento dos novos metalocompostos bioativos baseiam-se no princípio Isca-Anzol,⁸⁵ e neste contexto os compostos de rutênio apresentam vantagens devido às suas propriedades farmacodinâmicas. O princípio Isca-Anzol prevê a utilização de espécies biologicamente compatíveis, capazes de blindar interações direta entre o centro metálico e biomoléculas antes dos compostos chegarem ao alvo. Os mecanismos de transporte bioquímico dos compostos de rutênio, através das interações com biomoléculas, como a transferrina; fazem com que sejam mais biodistribuídos em células tumorais, acarretando um efeito antitumoral otimizado e com baixos efeitos colaterais.

5. Considerações Finais

A quimioterapia antineoplásica apresenta diversas limitações, como baixa seletividade às células tumorais e fatores de resistência inespecíficos (fenômeno MDR). Os mais recentes avanços na química inorgânica medicinal apresentam os compostos de rutênio como promissores à terapêutica do câncer, principalmente, devido a sua ação sobre a regulação e apoptose mitocondrial. O DNA

mitocondrial (mtDNA) é suscetível a danos no metabolismo do ácido nucléico e em processos de replicação, em uma taxa basal superior ao nDNA. Em decorrência disso, é sugerido que essas mutações do mtDNA se acumulam e são uma característica comum do câncer, onde uma maior carga mutacional gera um maior estresse oxidativo, levando a uma mutagênese mais extensa. Em virtude disso, os complexos de rutênio surgem como uma alternativa aos outros metalofármacos, uma vez que seus mecanismos antitumorais e antimetastáticos estão associados aos processos mitocondriais. Logo, se a “real” origem do câncer está ligada à mitocôndria e se os complexos de rutênio atuam efetivamente e especificamente nesta organela, esses compostos constituem uma classe potencial de combate, controle ou cura desta doença.

Referências Bibliográficas

1. INCA - Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva. Estimativa 2020. Disponível em: < <https://www.inca.gov.br/estimativa/introducao> > Acesso em: 28 maio 2020.
2. Chatterjee, A.; Sidransky, D.; Mitochondrial DNA mutation in human cancer. *Oncogene* **2006**, *25*, 4663. [Crossref]
3. Gammage, P. A.; Frezza, C.; Mitochondrial DNA: the overlooked oncogenome? *BMC Biology* **2019**, *17*, 53. [Crossref]
4. ONUBR - Nações Unidas do Brasil. OMS: câncer mata 8,8 milhões de pessoas anualmente no mundo. 2017. Disponível

- em: < <https://nacoesunidas.org/oms-cancer-mata-88-milhoes-de-pessoas-anualmente-no-mundo/>> Acesso em: 28 maio 2020.
5. OPAS/OMS – Organização Pan-Americana de Saúde. Disponível em: <<https://www.paho.org/pt/topicos/cancer>> Acesso em: 04 agosto 2021.
 6. IARC – International Agency for Research on Cancer. Disponível em: <https://gco.iarc.fr/today/home> Acesso em: 01 junho 2022.
 7. Jakupec, M. A.; Galanski, M.; Arion, V. B.; Hartinger, C. G.; Keppler, B. K.; Antitumor metal compounds: more than theme and variations. *Dalton Transactions* **2008**, *14*, 183. [PubMed]
 8. de Almeida, V. L.; Leitão, A.; Reina, L. D. C. B.; Montanari, C. A.; Donnici, C. L.; Lopes, M. T. P.; Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não específicos que interagem com o DNA: uma introdução. *Química Nova* **2005**, *28*, 118. [Crossref]
 9. Santana, S. A. A.; Carvalho-Jr, V. P.; Lima-Neto, B. S.; DMSO molecule as an ancillary ligand in Ru-based catalysts for ring-opening metathesis polymerization. *Journal of the Brazilian Chemistry Society* **2010**, *21*, S1. [Crossref]
 10. Bielawski, C. W.; Louie, J.; Grubbs, R. H.; Tandem catalysis: three mechanistically distinct reactions from a single ruthenium complex. *Journal of the American Chemical Society* **2000**, *122*, 12872. [Crossref]
 11. Allardyce, C. S.; Dyson, P. J.; Ruthenium in medicine: Current Clinical Uses and Future Prospects. *Platinum Metals Review* **2001**, *45*, 35. [Link]
 12. Bergamo, A.; Masi, A.; Dyson, P. J.; Sava, G.; Modulation of the metastatic progression of breast cancer with an organometallic ruthenium compound. *International Journal of Oncology* **2008**, *33*, 1281. [Crossref]
 13. Biancalana, L.; Pampaloni, G.; Marchetti, F.; Arene Ruthenium(II) Complexes with Phosphorous Ligands as Possible Anticancer Agents. *Chimia* **2017**, *71*, 573. [Crossref]
 14. Messori, L.; Marzo, T.; Sanches, R. N. F.; Rehman, H.-U.; Silva, D. O.; Merlino, A.; Unusual Structural Features in the Lysozyme Derivative of the Tetrakis(acetate)chloridodiruthenium(II,III) Complex. *Angewandte Chemie International Edition* **2014**, *53*, 6172. [Crossref]
 15. Vergara, A.; Russo Krauss, I.; Montesarchio, D.; Paduano, L.; Merlino, A.; *Inorganic Chemistry* **2013**, *52*, 10714. [Crossref]
 16. a) Seddon, E. A.; Seddon, K. R.; *The Chemistry of Ruthenium*, Elsevier Science, Publishing Co. Inc.: Amsterdam, 1984; b) Gielen, M.; Tiekink, E. R. T.; *Metallotherapeutic drugs and metal-based diagnostic agents: the use of metals in medicine*, John Wiley & Sons: Chichester, 2005.
 17. Reedijk, J.; Metal-Ligand Exchange Kinetics in Platinum and Ruthenium Complexes. *Platinum Metal Review* **2008**, *52*, 2. [Crossref]
 18. Levina, A.; Mitra, A.; Lay, P. A.; Recent developments in ruthenium anticancer drugs. *Metallomics* **2009**, *1*, 458. [Crossref]
 19. Sava, G.; Pacor, S.; Mestroni, G.; Alessio, E.; Na[*trans*-RuCl₄(DMSO)Im], a metal complex of ruthenium with antimetastatic properties. *Clinica Experimental Metastasis* **1992**, *10*, 273. [Crossref]
 20. Clarke, M. J.; Bitier, S.; Rennert, D.; Buchbinder, M.; Kelman, A. D.; Reduction and Subsequent Binding of Ruthenium Ions Catalyzed by Subcellular Components. *Journal of Inorganic Biochemistry* **1980**, *12*, 79. [Crossref]
 21. Durig, J. R.; Danneman, J.; Behnke, W. D.; Mercer, E. E.; The Induction of Filamentous Growth in Escherichia Coli by Ruthenium and Palladium Complexes. *Chemico-Biological Interactions* **1976**, *13*, 287. [Crossref]
 22. Mestroni G., Alessio E., Sava G., Pacor S., Coluccia M., Boccarelli A.; Water-Soluble Ruthenium(III)-Dimethyl Sulfoxide Complexes: Chemical Behaviour and Pharmaceutical Properties. *Metal-based Drugs* **1994**, *1*, 41. [Crossref]
 23. Keppler, B. K.; Rupp, W.; Antitumor activity of imidazolium-bisimidazole-tetrachlororuthenate(III). *Journal of Cancer Research Clinical Oncology* **1986**, *111*, 166. [Crossref]
 24. Sava, G.; Pacor, S.; Bergamo, A.; Cocchietto, M.; Mestroni, G.; Alessio, E.; Effects of ruthenium complexes on experimental tumors: irrelevance of cytotoxicity for metastasis inhibition. *Chemico-Biological Interactions* **1995**, *95*, 109. [Crossref]
 25. Bergamo, A.; Gagliardi, R.; Scarzia, V.; Furlani, A.; Alessio, E.; Mestroni, G.; Sava, G.; In vitro cell cycle arrest, in vivo action on solid metastasizing tumors, and host toxicity of the antimetastatic drug NAMI-A and cisplatin. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **1999**, *289*, 559. [PubMed]
 26. 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 Transactions* **2014**, *43*, 6128. [PubMed]
 27. Levina, A.; Mitra, A.; Lay, P. A.; Recent developments in ruthenium anticancer drugs. *Metallomics* **2009**, *1*, 458. [PubMed] [Crossref]
 28. Sava, G.; Zorzet, S.; Turrin, C.; Vita, F.; Soranzo, M. R.; Zabucchi, G.; Cocchietto, M.; Bergamo, A.; DiGiovine, S.; Pezzoni, G.; Sartor, L.; Garbisa, S.; Dual Action of NAMI-A in Inhibition of Solid Tumor Metastasis. *Clinical Cancer Research* **2003**, *9*, 1898. [PubMed]
 29. 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 Metallo drug with Proteins. *ChemMedChem* **2010**, *5*, 1989. [PubMed] [Crossref]
 30. Ciambellotti, S.; Pratesi, A.; Severi, M.; Ferraro, G.; Alessio, E.; Merlino, A.; Messori, L.; The NAMI-A – human ferritin system: a biophysical characterization. *Dalton Transactions* **2018**, *47*, 11429. [PubMed] [Crossref]
 31. Alessio, E.; Thirty Years of the Drug Candidate NAMI-A and the Myths in the Field of Ruthenium Anticancer Compounds: A Personal Perspective. *European Journal of Inorganic Chemistry* **2017**, *12*, 1549. [Crossref]
 32. Bratsos, I.; Jedner, S.; Gianferrara, T.; Alessio, E.; Ruthenium Anticancer Compounds: Challenges and Expectations. *Metals in Medicine* **2007**, *61*, 692. [Crossref]
 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. *Chemistry & Biodiversity* **2008**, *5*, 2140. [Crossref]
 34. 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 Transactions* **2015**, *44*, 1905. [[PubMed](#)]
35. Trondl, R.; Heffeter, P.; Kowol, C. R.; Jakupec, M. A.; Berger, W.; Keppler, B. K.; NKP-1339, the first ruthenium-based anticancer drug on the edge to clinical application. *Chemical Science* **2014**, *5*, 2925. [[Crossref](#)]
36. Trondl, R.; Heffeter, P.; Jakupec, M.A.; Berger, W.; Keppler, B. K.; *BMC Pharmacology and Toxicology* **2012**, *13*, A82. [[Crossref](#)]
37. 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. [[Crossref](#)]
38. Kilpin, K. J.; Cammack, S. M.; Clavel, C. M.; Dyson, P. J.; Ruthenium(II) arene PTA (RAPTA) complexes: impact of enantiomerically pure chiral ligands. *Dalton Transactions* **2013**, *42*, 2008. [[Crossref](#)]
39. Chatterjee, S.; Kundu, S.; Bhattacharyya, A.; Hartinger, C. G.; Dyson, P. J.; The ruthenium(II)-arene compound RAPTA-C induces apoptosis in EAC cells through mitochondrial and p53-JNK pathways. *Journal of Biological Inorganic Chemistry* **2008**, *13*, 1149. [[Crossref](#)]
40. Weiss, A.; Berndsen, R. H.; Dubois, M.; Muller, C.; Schibli, R.; Griffioen, A. W.; Dyson, P. J.; Nowank-Sliwinska, P.; In vivo anti-tumor activity of the organometallic ruthenium(II)-arene complex [Ru(η^6 -*p*-cymene)Cl₂(pta)] (RAPTA-C) in human ovarian and colorectal carcinoma. *Chemical Science* **2014**, *12*, 4742. [[Crossref](#)]
41. Nhukeyaw, T.; Hongthong, K.; Dyson, P. J.; Ratanaphan, A.; Cellular responses of BRCA1-defective HCC1937 breast cancer cells induced by the antimetastasis ruthenium(II) arene compound RAPTA-T. *Apoptosis* **2019**, *24*, 612. [[Crossref](#)]
42. Lee, R. F. S.; Escrig, S.; Maclachlan, C.; Knott, G. W.; Meibom, A.; Sava, G.; Dyson, P. J.; The Differential Distribution of RAPTA-T in Non-Invasive and Invasive Breast Cancer Cells Correlates with Its Anti-Invasive and Anti-Metastatic Effects. *International Journal of Molecular Sciences* **2017**, *18*, 9. [[Crossref](#)]
43. Castonguay, A.; Doucet, C.; Juhas, M.; Maysinger, D.; New Ruthenium(II)-Letrozole Complexes as Anticancer Therapeutics. *Journal of Medicinal Chemistry* **2012**, *55*, 8799. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
44. Studer, V.; Anghei, N.; Desiatkina, O.; Felder, T.; Boubaker, G.; Amdouni, Y.; Ramseier, J.; Hungerbühler, M.; Heverhagen, J. T.; Hemphill, A.; Ruprecht, N.; Furrer, J.; Păunescu, A.; Conjugates Containing Two and Three Trithiolato-Bridged Dinuclear Ruthenium(II)-Arene Units as In Vitro Antiparasitic and Anticancer Agents. *Pharmaceuticals* **2020**, *13*, 471. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
45. Brabec, V.; Nováková, O.; DNA binding mode of ruthenium complexes and relationship to tumor cell toxicity. *Drug Resistance Updates* **2006**, *9*, 111. [[Crossref](#)]
46. Dik-lung, M.; Chi-Ming, C.; Fung-Ming, S.; Mengsu, Y.; Kwok-Yin, W.; DNA binding and cytotoxicity of ruthenium(II) and ruthenium(I) complexes of 2-amino-4-phenylamino-6-(2-pyridyl)-1,3,5-triazine. *Inorganic Chemistry* **2007**, *46*, 740. [[Crossref](#)]
47. Gaur, R.; Mishra, L.; Bi-nuclear Ru(II) complexes of bis-chalcone and bis-flavonol: synthesis, characterization, photo cleavage of DNA and Topoisomerase I inhibition. *RSC Advances* **2013**, *3*, 12210. [[Crossref](#)]
48. Lakshmi, B. A.; Bae, J.; An, J. H.; Kim, S.; Facile design and spectroscopic characterization of novel bio-inspired Quercetin-conjugated tetrakis (dimethylsulfoxide) dichlororuthenium(II) complex for enhanced anticancer properties. *Inorganica Chimica Acta* **2019**, *495*, 118989. [[Crossref](#)]
49. Costa, M. S.; Gonçalves, Y. G.; Borges, B. C.; Silva, M. J. B.; Amstalden, M. K.; Costa, T. R.; Antunes, L. M. G.; Rodrigues, R. S.; Rodrigues, V. M.; Franca, E. F.; Zoia, M. A. P.; Araujo, T. G.; Goulart, L. R.; Poelhsitz, G. V.; Yoneyama, K. A. G.; Ruthenium (II) complex cis-[Ru^{II}(η^2 -O₂CC₇H₇O₂)(dppm)₂] PF₆-hmxbato induces ROS-mediated apoptosis in lung tumor cells producing selective cytotoxicity. *Scientific Reports* **2020**, *10*, 15410. [[Crossref](#)]
50. Caruso, F.; Monti, E.; Matthews, J. Rossi, M.; Gariboldi, M. B.; Pettinari, C.; Pettinari, R.; Marchetti, F.; Synthesis, Characterization, and Antitumor Activity of Water-Soluble (Arene)ruthenium(II) Derivatives of 1,3-Dimethyl-4-acylpyrazolon-5-ato Ligands. First Example of Ru(arene) (ligand) Antitumor Species Involving Simultaneous Ru-N7(guanine) Bonding and Ligand Intercalation to DNA. *Inorganic Chemistry* **2014**, *53*, 3668. [[Crossref](#)]
51. Ganeshpandian, M.; Palaniandavar, M.; Muruganatham, A.; Ghosh, S. K.; Riyasdeen, A.; Akbarsha, M. A.; Ruthenium(II)-arene complexes of diimines: Effect of diimine intercalation and hydrophobicity on DNA and protein binding and cytotoxicity. *Applied Organometallic Chemistry* **2017**, *32*, e4154. [[Crossref](#)]
52. Despax, S.; Jia, F.; Pfeffer, M.; Hebraud, P.; Complexation of DNA with ruthenium organometallic compounds: the high complexation ratio limit. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2014**, *16*, 10491. [[Crossref](#)]
53. Demoro, B.; Rossi, M.; Caruso, F.; Liebowitz, D.; Olea-Azar, C.; Kemmerling, U.; Maya, J. D.; Guiset, H.; Moreno, V.; Pizzo, C.; Mahler, G.; Otero, L.; Gambino, D.; Potential Mechanism of the Anti-trypanosomal Activity of Organoruthenium Complexes with Bioactive Thiosemicarbazones. *Biological Trace Element Research* **2013**, *153*, 371. [[Crossref](#)]
54. Pagano, M.; Demoro, B.; Toloza, J.; Boiani, L.; Gonzalez, M.; Cerecetto, H.; Olea-Azar, C.; Norambuena, E.; Gambino, D.; Otero, L.; Effect of ruthenium complexation on trypanocidal activity of 5-nitrofuryl containing thiosemicarbazones. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2009**, *44*, 4937. [[Crossref](#)]
55. Srishailam, A.; Gabra, N. M.; Kumar, Y. P.; Reddy, K. L.; Devi, C. S.; Kumar, D. A.; Singh, S. S.; Satyanarayana, S.; Synthesis, characterization, DNA binding and antitumor activity of ruthenium(II) polypyridyl complexes. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* **2014**, *141*, 47. [[Crossref](#)]
56. Benite, A. M. C.; Machado, S. P.; Barreiro, E. J.; Uma Visão da Química Bioinorgânica Medicinal. *Química Nova* **2007**, *30*, 2062. [[Link](#)]

57. Bergamo, A.; Sava, G.; Ruthenium anticancer compounds: myths and realities of the emerging metal-based drugs. *Dalton Transactions* **2011**, *40*, 7817. [Crossref]
58. Anderson, G. J.; Vulpe, C. D.; Mammalian Iron Transport. *Cellular and Molecular Life Sciences* **2009**, *66*, 3241. [Crossref]
59. Green, D. R.; Reed, J. C.; Mitochondria and apoptosis. *Science* **1998**, *281*, 1309. [PubMed]
60. Kroemer, G.; Reed, J. C.; Mitochondrial control of cell death. *Natural Medicine* **2000**, *6*, 513. [PubMed]
61. Chatterjee, S.; Kundu, S.; Bhattacharyya, A.; Hartinger, C.; Dyson, P.; The ruthenium(II)-arene compound RAPTAC induces apoptosis in EAC cells through mitochondrial and p53-JNK pathways. *Journal of Biological Inorganic Chemistry* **2008**, *13*, 1149. [Crossref]
62. Wallace, D. C.; Mitochondrial diseases in man and mouse. *Science* **1999**, *283*, 1482. [Crossref]
63. Murphy, M. P.; Smith, R. A. J.; Drug delivery to mitochondria: the key to mitochondrial medicine. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2000**, *41*, 235. [Crossref]
64. Chen, T.; Liu, Y.; Zheng, W. J.; Liu, J.; Wong, Y. S.; Ruthenium Polypyridyl Complexes That Induce Mitochondria-Mediated Apoptosis in Cancer Cells. *Inorganic Chemistry* **2010**, *49*, 6366. [Crossref]
65. Chen, T.; Mei, W. J.; Wong, Y.-S.; Liu, J.; Liu, Y.; Xie, H. S.; Zheng, W. J.; Chiral ruthenium polypyridyl complexes as mitochondria-targeted apoptosis inducers. *MedChemComm* **2010**, *1*, 73. [Crossref]
66. Liu, Y.; Chen, T.; Wong, Y. S.; Mei, W.-J.; Huang, X.-M.; Yang, F.; Liu, J.; Zheng, W. J.; DNA binding and photocleavage properties and apoptosis-inducing activities of a ruthenium porphyrin complex [(Py-3')TPP-Ru(phen)₂Cl]Cl and its heterometallic derivatives. *Chemico-Biological Interactions* **2010**, *183*, 349. [Crossref]
67. Yang, X.; Chen, L.; Liu, Y.; Yang, Y.; Chen, T.; Zheng, W.; Liu, J.; He, Q. Y.; Ruthenium methylimidazole complexes induced apoptosis in lung cancer A549 cells through intrinsic mitochondrial pathway. *Biochimie* **2012**, *94*, 345. [Crossref]
68. Tan, C.; Lai, S.; Wu, S.; Hu, S.; Zhou, L.; Chen, Y.; Wang, M.; Zhu, Y.; Lian, W.; Peng, W.; Ji, L.; Xu, A.; Nuclear permeable ruthenium(II) beta-carboline complexes induce autophagy to antagonize mitochondrial-mediated apoptosis. *Journal of Medicinal Chemistry* **2010**, *53*, 7613. [Crossref]
69. Li, L.; Wong, Y. S.; Chen, T.; Fan, C.; Zheng, W.; Ruthenium complexes containing bis-benzimidazole derivatives as a new class of apoptosis inducers. *Dalton Transactions* **2012**, *41*, 1138. [Crossref]
70. Ezadyar, S. A.; Kumbhar, A. S.; Kumbhar, A. A.; Khan, A.; Binuclear ruthenium(II) polypyridyl complexes: DNA cleavage and mitochondria mediated apoptosis induction. *Polyhedron* **2012**, *36*, 45. [Crossref]
71. Rodrigues, F. P.; Pestana, C. R.; Polizello, A. C. M.; Pardo-Andreu, G. L.; Uyemura, S. A.; Santos, A. C.; Alberici, L. C.; da Silva, R. S.; Curti, C.; Release of NO from a nitrosyl ruthenium complex through oxidation of mitochondrial NADH and effects on mitochondria. *Nitric Oxide* **2012**, *26*, 174. [Crossref]
72. Pierroz, V.; Joshi, T.; Leonidova, A.; Mari, C.; Schur, J.; Ott, I.; Spiccia, L.; Ferrari, S.; Gasser, G.; Molecular and Cellular Characterization of the Biological Effects of Ruthenium(II) Complexes Incorporating 2-Pyridyl-2-pyrimidine-4-carboxylic Acid. *Journal American Chemical Society* **2012**, *134*, 20376. [Crossref]
73. Atilla-Gokcumen, G. E.; Pagano, N.; Streu, C.; Maksimoska, J.; Filippakopoulos, P.; Knapp, S.; Meggers, E.; Extremely Tight Binding of Ruthenium Complex to Glycogen Synthase Kinase 3. *ChemBioChem* **2008**, *9* (18), 2933. [Crossref]
74. Kou, J. F.; Qian, C.; Wang, J. Q.; Chen, X.; Wang, L. L.; Chao, H.; Ji, L. N.; Chiral ruthenium(II) anthraquinone complexes as dual inhibitors of topoisomerases I and II. *Journal of Biological Inorganic Chemistry* **2012**, *17*, 81. [Crossref]
75. Murphy, M. P. Selective targeting of bioactive compounds to mitochondria. *Trends Biotechnology* **1997**, *15*, 326. [Crossref]
76. Branco, A.; Pinto, A. C.; Braz-Filho, R.; Silva, E. F.; Grynberg, N. F.; Echevarria, A.; Rubrofusarina, um policetídeo natural inibidor da topoisomerase II- α humana. *Revista Brasileira de Farmacognosia* **2008**, *18*, 703. [Crossref]
77. Parchment, R. E.; Pessin, A.; Topoisomerase I inhibitors and drug resistance. *Cytotechnology* **1998**, *27*, 149. [Crossref]
78. Katkar, P.; Coletta, A.; Castelli, S.; Sabino, G. L.; Couto, R. A.; Ferreira, A. M.; Desideri, A.; Effect of oxindolimine copper(II) and zinc(II) complexes on human topoisomerase I activity. *Metallomics* **2014**, *6*, 117. [Crossref]
79. Gao, F.; Chao, H.; Wang, J.; Yuan, Y.; Sun, B.; Wei, Y.; Peng, B.; Ji, L.; Targeting topoisomerase II with the chiral DNA-intercalating ruthenium(II) polypyridyl complexes. *Biological Inorganic Chemistry* **2007**, *12*, 1015. [Crossref]
80. Som, P.; Oster, Z. H.; Matsui, K.; Guglielmi, G.; Persson, B. R.; Pellettieri, M. L.; Srivastava, S. C.; Richards, P.; Atkins, H. L.; Brill, A. B.; ⁹⁷Ru-transferrin uptake in tumor and abscess. *European Journal of Nuclear Medicine Molecular Imaging* **1983**, *8*, 491. [Crossref]
81. Brabec, V.; DNA Modifications by antitumor platinum and ruthenium compounds: Their recognition and repair. *Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology* **2002**, *71*, 1. [Crossref]
82. Brabec, V.; Novakova, O.; DNA binding mode of ruthenium complexes and relationship to tumor cell toxicity. *Drug Resistance Updates* **2006**, *9*, 111. [Crossref]
83. Monro, S.; Colónb, K. L.; Yina, H.; Roque, J.; Kondac, P.; Gujarc, S.; Thummelg, R. P.; Lilgeh, L.; Cameron, C. G.; McFarland, S. A.; Transition Metal Complexes and Photodynamic Therapy from a Tumor-Centered Approach: Challenges, Opportunities, and Highlights from the Development of TLD1433. *Chemical Review* **2019**, *119*, 797. [Crossref] [PubMed]
84. Bruno, R. D.; Njara, V. C. O.; Targeting cytochrome P450 enzymes: A new approach in anti-cancer drug development. *Bioorganic Medicinal Chemistry* **2007**, *15*, 5047. [Crossref] [PubMed]
85. da Silva, R. G.; Silva, W. E.; Belian, M. F.; Quimioterápicos Antineoplásicos à Base de Platina Sob a Luz da Biologia Evolutiva. *Revista Virtual Química*, **2018**, *10*, 1140.
86. Golbaghi, G.; Castonguay, A.; Rationally Designed Ruthenium

- Complexes for Breast Cancer Therapy. *Molecules* **2020**, *25*, 265. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
87. Anghileri, L. J.; Radioactive ruthenium red accumulation by tumors. Potential scanning agent. *Strahlentherapie* **1975**, *149*, 173. [[PubMed](#)]
88. Hartinger, C. G.; Phillips, A. D.; Nazarova, A. A.; Polynuclear Ruthenium, Osmium and Gold Complexes. The Quest for Innovative Anticancer Chemotherapeutics. *Current Topics in Medicinal Chemistry* **2011**, *11*, 21. [[Crossref](#)]