

УДК 541.49:615.771.7

## Первые данные о взаимосвязи структуры и реакционной способности комплексов типа $[\text{RuCl}_4(\text{azole})_2]^-$ , проявляющих противоопухолевую активность

Э. Райснер, В. Б. Арион, Б. К. Кеплер, А. Ж. Л. Помбейро, В. Ю. Кукушкин

ЭРВИН РАЙСНЕР (ERWIN REISNER) — аспирант Института неорганической химии университета Вены (Австрия). Область научных интересов: химия и электрохимия комплексов рутения с азольными лигандами, обладающими противоопухолевыми свойствами.

ВЛАДИМИР БОРИСОВИЧ АРИОН — доктор химических наук, профессор Института неорганической химии университета Вены (Австрия). Область научных интересов: координационная и бионеорганическая химия, темплатный синтез, полиядерные металлокомплексы, комплексы металлов с биолигандами.

БЕРНХАРД КЛАУС КЕПЛЕР (BERNHARD K. KEPPLER) — доктор химических наук, доктор медицинских наук, профессор, директор Института неорганической химии университета Вены (Австрия). Область научных интересов: бионеорганическая химия, комплексные соединения ионов металлов с биолигандами, противоопухолевые препараты. E-mail kepler@ap.univie.ac.at

АРМАНДО ПОМБЕЙРО (ARMANDO J. L. POMBEIRO) — доктор химических наук, профессор Технического университета (Лиссабон, Португалия). Область научных интересов: металлопрототируемый синтез, координационная и бионеорганическая химия, активация малых молекул, катализ, электрохимия координационных соединений.

ВАДИМ ЮРЬЕВИЧ КУКУШКИН — доктор химических наук, профессор химического факультета Санкт-Петербургского государственного университета (СПбГУ). Область научных интересов: металлопрототируемый синтез, координационная и бионеорганическая химия, реакционная способность лигандов. E-mail kukushkin@VK2100.spb.edu

Institute of Inorganic Chemistry of the University of Vienna, Währinger str. 42, A-1090 Vienna, Austria, tel. +43-1-427752608, fax +43-1-427752680.

198504 Санкт-Петербург, Старый Петергоф, Химический факультет СПбГУ.

### Введение

Хорошо известно, что ряд комплексов на основе платины обладает существенной противоопухолевой активностью, и некоторые представители этих металлосодержащих препаратов активно используются в клинической практике [1—3]. Многообещающей альтернативой лекарствам на основе комплексов платины являются соединения рутения [4, 5]. Последние, как представляется, в этом отношении весьма перспективны благодаря их более низкой токсичности и специфичности по отношению к некоторым раковым заболеваниям, в лечении которых платиновые комплексы не проявляют достаточной биологической активности. В настоящее время два соединения рутения(III) —  $(\text{H}_2\text{im})[\text{транс-RuCl}_4(\text{Him})(\text{dmso})]$  [6] (NAMI-A, Him = имидазол, dmso = S-координированный диметилсульфоксид) и  $(\text{H}_2\text{ind})[\text{транс-RuCl}_4(\text{Hind})_2]$  [7—9] (KP1019, Hind = индазол) проходят клинические испытания.

Комплекс  $(\text{H}_2\text{ind})[\text{транс-RuCl}_4(\text{Hind})_2]$ , который был синтезирован Кеплером и сотр. [10], проявляет очень высокую активность в случае аутохтонных колоректальных раковых заболеваний крыс — болезней, схожих с раком толстой кишки у человека [7]. Несмотря на скудную информацию о механизме действия рутенийсодержащих лекарств, в ряде работ [5] предполагается, что комплексы Ru(III) действуют в качестве про-

лекарств, превращаясь *in vivo* в соответствующую активную форму. На сегодняшний день наиболее обсуждаемая гипотеза заключается в активации пролекарства в результате его восстановления. Суть ее в том, что в пролекарстве металлоцентр Ru(III) селективно восстанавливается в обедненных кислородом раковых клетках. Редокс-процесс протекает потому, что восстановительный потенциал в таких тканях обычно ниже, чем в обычных клетках [5]. Восстановление кинетически инертных производных Ru(III) (электронная конфигурация  $d^5$ , низкий спин) приводит к образованию более лабильных частиц Ru(II) (электронная конфигурация  $d^6$ , низкий спин). Последние способны легче координироваться с биомолекулами, по сравнению с Ru(III)содержащими пролекарствами. Считается, что рутений(II) далее координируется с молекулой ДНК в клетке за счет N(7) атома пуринового основания — гуанина или аденина — и, таким образом, предотвращается репликация. Кристаллографические данные полученные в результате исследования взаимодействия 9-метиладенина с  $[\text{RuCl}_4(\text{Hind})_2]^-$  [11] служат основанием для такого предположения. Важно отметить, что цисплатин, координируясь к аденину или гуанину, атакует тот же самый атом азота N(7) [12].

Естественная цель работ по изучению биологической активности комплексов рутения — повышение их противоопухолевой эффективности. Проводимые в

настоящее время исследования фокусируются на изучении количественных аспектов взаимосвязи структуры препарата с его реакционной способностью. Сопоставление данных, полученных в результате проведения биологических испытаний на раковых клетках, и различных физико-химических параметров комплексов рутения уже дало ценную информацию, которая может быть использована для создания новых противоопухолевых препаратов на основе рутения. Некоторые из этих результатов, полученные нами в самое последнее время [11, 13–15], обсуждаются в данной статье.

### Взаимосвязь между противоопухолевой активностью комплексов рутения и геометрической изомерией

Известно, что геометрия комплекса может оказывать существенное влияние на антиканцерогенную активность препарата. В то время как цисплатин ( $\text{cis-}[\text{PtCl}_2(\text{NH}_3)_2]$ ) проявляет значительные противоопухолевые свойства, его *транс*-изомер ( $\text{транс-}[\text{PtCl}_2(\text{NH}_3)_2]$ ) в этом отношении инертен [12]. В этой связи сопоставление биологической активности *цис*- и *транс*-изомеров комплексов типа  $[\text{RuCl}_4\text{L}_2]^-$  также представляет значительный интерес. Выделение обоих изомеров было осуществлено для комплексов  $[\text{RuCl}_4(\text{Htrz})_2]^-$  ( $\text{Htrz} = 1,2,4$ -триазол, координированный атомом N(2)). *Цис-транс*-изомеризации в водном растворе обнаружено не было, поэтому оба изомера оказались пригодны для биологических исследований с целью оценки их антипролиферативной активности.

Так,  $(\text{H}_2\text{trz})[\text{транс-RuCl}_4(\text{Htrz})_2]$  и  $(\text{H}_2\text{trz})[\text{цис-RuCl}_4(\text{Htrz})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$  были протестированы на трех типах раковых клеток [HT29, SW480 (карцинома толстой кишки), SK-BR-3 (карцинома молочной железы)] [13]. Обнаружено, что *транс*- по сравнению с *цис*-изомером проявляет более высокую антипролиферативную активность во всех трех вышеупомянутых типах раковых клеток, причем эта активность выше в случае карциномы толстой кишки, чем в случае карциномы молочной железы. Например, для клеток SW480 карциномы толстой кишки:  $\text{IC}_{50}(\text{транс}) = 113 \pm 8$  мкМ,  $\text{IC}_{50}(\text{цис}) = 164 \pm 5$  мкМ (чем выше значение  $\text{IC}_{50}$ , тем ниже соответствующий антипролиферативный эффект соединения на раковую клетку). Также была установлена временная зависимость влияния геометрических изомеров на все три типа раковых клеток. После 24 ч воздействия лекарств на раковые клетки при концентрации до 2 мкМ антипролиферативного эффекта обнаружено не было. Эффект проявляется только после 96 ч. Объяснение этому факту — по-видимому медленная активация и медленное достижение необходимой концентрации веществ в раковой клетке.

### Взаимосвязь окислительно-восстановительного потенциала комплексов с константами скорости сольволиза при восстановлении пролекарства

Окислительно-восстановительный потенциал  $E_{1/2}$  пары  $\text{Ru}^{\text{III}}/\text{Ru}^{\text{II}}$  в  $\text{Na}[\text{транс-RuCl}_4(\text{Hind})_2]$  равен 0,03 В [14] (по отношению к стандартному водородному электроду в фосфатном буфере при pH 7). Этот потенциал физиологически доступен, поскольку, в частности, глутатион (наиболее распространенный внутриклеточный тиол [16]) с  $E^0 = -0,25$  В способен

восстанавливать рутений(III) до рутения(II) [17]. Аргументом в пользу гипотезы об активации пролекарства в результате восстановления может являться ускорение связывания  $(\text{H}_2\text{ind})[\text{транс-RuCl}_4(\text{Hind})_2]$  с ГМФ (гуанозин-5'-монофосфатом) и АМФ (аденозин-5'-монофосфатом) в присутствии таких восстанавливающих агентов, как глутатион или аскорбиновая кислота. Последние, как известно [18], способны восстанавливать рутений(III) в комплексе  $(\text{H}_2\text{ind})[\text{транс-RuCl}_4(\text{Hind})_2]$  до рутения(II).

Информация об окислительно-восстановительных потенциалах рутениевых комплексов, свидетельствующая о возможности их восстановления *in vivo* в раковых клетках, играет важную роль в направленном дизайне и синтезе новых эффективных рутениевых пролекарств. Ранее Ливер предложил общий подход для идентификации и предсказания окислительно-восстановительных потенциалов комплексов рутения, который подразумевает аддитивный вклад каждого конкретного лиганда в окислительно-восстановительный потенциал  $\text{Ru}^{\text{III}}/\text{Ru}^{\text{II}}$  в комплексе. Этот вклад выражается через так называемый лигандный параметр  $E_L$  [19], который отражает, в частности, электронодонорные свойства лиганда. Увеличение значений таких параметров соответствует увеличению значений окислительно-восстановительного потенциала соответствующего комплекса. Таблицы с величинами  $E_L$  параметров доступны в литературе [19] или в интернете на сайте проф. А.Б.П. Ливера [20].

Используя эмпирическое уравнение (1)

$$E = S_M \cdot \sum E_L + I_M \quad (1)$$

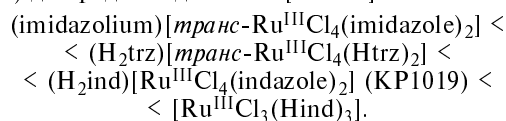
можно оценить окислительно-восстановительный потенциал металлоцентра в комплексе как в водных растворах, так и в органической среде. Постоянные  $S_M$  и  $I_M$  зависят от природы металла, его спинового состояния и геометрии. Более того, значения  $S_M$  и  $I_M$  [19] зависят от растворителя, а в водном растворе еще и от заряда комплекса [14] и значения pH раствора [21]. В органических растворителях  $S_M$  и  $I_M$  равны 0,97 и 0,04 [19], соответственно, а в водном растворе при pH 7 для соединений с зарядом комплексного иона  $-1$  эти величины равны 0,88 и 0,46, соответственно [14]. Параметры  $E_L$  в сочетании со значениями  $S_M$  и  $I_M$  позволяют предсказать окислительно-восстановительные потенциалы  $\text{Ru}^{\text{III}}/\text{Ru}^{\text{II}}$  в комплексах. А это в свою очередь позволит создавать пролекарства с оптимальными для физиологических условий окислительно-восстановительными свойствами.

Поскольку восстановление рутения(III) до рутения(II) приводит к образованию частиц, ответственных за противоопухолевую активность, исследование кинетики сольволиза при восстановлении комплексов рутения дает дополнительную важную информацию о реакционной способности образующихся в результате восстановления промежуточных соединений. Возрастание электронодонорного характера (уменьшение значения  $E_L$  нейтральных лигандов (в ряду: диметилсульфоксид < индазол < триазол < имидазол) и основности азольных лигандов (возрастание  $pK_a$  атома азота пиридинового типа), как установлено [14], способствует как увеличению лабильности комплекса в отношении замещения хлоридных лигандов, так и смещению потенциала пары  $\text{Ru}(\text{III})/\text{Ru}(\text{II})$  в катодную об-

ласть. Следовательно, термодинамический стабилизирующий эффект лигандов на Ru(III) относительно Ru(II) сопровождается повышением кинетической лабильности соответствующих восстановленных форм рутения(II). Этот факт необходимо учитывать в дальнейших разработках таких лекарств, обращая особое внимание на устойчивость промежуточных соединений, возникающих при восстановлении, и окислительно-восстановительные потенциалы пролекарств [14].

#### Связь между противоопухолевой активностью комплексов и их электрохимическими параметрами

Если предположить, что гипотеза об активации пролекарств в результате их восстановления правильна, то увеличение значений их окислительно-восстановительных потенциалов должно приводить к увеличению антипролиферативной активности. Последняя выражается в снижении значений IC<sub>50</sub> и соответствует легкости восстановления пролекарства и образования активных частиц. Исследования по изучению корреляций между окислительно-восстановительным потенциалом и антипролиферативной активностью комплекса (H<sub>2</sub>ind)[*транс*-RuCl<sub>4</sub>(Hind)<sub>2</sub>] в очередной раз подтвердили разумность гипотезы об активации пролекарств в результате восстановления. Так, было показано, что увеличение значений окислительно-восстановительных потенциалов соответствует повышению антипролиферативной активности в случае раковых клеток типа SW-480 (карциномы толстой кишки) для ряда соединений [13–15]:



Направление изменения значений окислительно-восстановительных потенциалов и значений IC<sub>50</sub> строго соответствуют этому ряду.

#### Перспективы дальнейших исследований

Рациональный подход к разработке рутениевых комплексов, проявляющих противоопухолевую активность, должен учитывать их структурные параметры, окислительно-восстановительные потенциалы, липофильность, скорость гидролиза и легкость диссоциации лигандов при восстановлении, а также биологические аспекты (например, результаты тестирования антипролиферативной активности *in vitro*). Наши работы [11, 13–15] — это первый подход к пониманию взаимосвязи между структурой и активностью в ряду комплексов типа [RuCl<sub>4</sub>(azole)<sub>2</sub>]<sup>-</sup>. В дальнейшем, накопленный опыт и информация о физических, химических и биологических свойствах таких комплексов с различными азольными лигандами должны дать более полное представление о количественных корреляциях «структура—активность». Электрохимическое исследование таких лекарств, особенно мониторинг окислительно-восстановительных потенциалов, которые меняются в результате направленной модификации со-

става и структуры комплексов, является рациональной стратегией для создания новых производных рутения(III) в качестве селективных биовосстанавливающих пролекарств. При этом немаловажны также такие свойства пролекарства как отношение к гидролизу, липофильность и стерические параметры необходимые для максимального взаимодействия с биологическими молекулами.

Данные исследования стали возможными благодаря финансовой поддержке со стороны FWF (Австрийский научный фонд), Университета Вены (Австрия), Научно-технического фонда Fundação para a Ciência e a Tecnologia (программа РОСТИ) (Португалия) и Российского фонда фундаментальных исследований.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Rosenberg B., Van Camp L., Krigas T. Nature, 1965, v. 205, p. 698.
- Cisplatin: Chemistry and Biochemistry of a Leading Anticancer Drug. Ed. B. Lippert, Helvetica Chimica Acta / Wiley VCH, Zürich / Switzerland, Weinheim / Germany, 1999.
- Wong E., Giandomenico Ch.M. Chem.Rev., 1999, v. 99, p. 2451.
- Clarke M.J., Zhu F., Frasca D.R. Ibid., 1999, v. 99, p. 2511.
- Clarke M.J. Coord. Chem. Rev., 2003, v. 236, p. 209.
- Sava G., Alessio E., Bergamo A., Mestroni G. In: Topics in Biological Inorganic Chemistry. Eds. M.J. Clarke, P.J. Sadler, Springer, Berlin, 1999, p. 143.
- Keppler B.K., Lipponer K.G., Stenzel B., Kratz F. In: Metal Complexes in Cancer Chemotherapy Ed. B.K. Keppler, VCH Weinheim, 1993.
- Pieper T., Borsky K., Keppler B.K. In: Topics in Biological Inorganic Chemistry. Eds. M.J. Clarke, P.J. Sadler, Springer, Berlin, 1999, p. 171.
- Galanski M., Arion V.B., Jakupec M.A., Keppler B.K. Curr. Pharm. Des., 2003, v. 9, p. 2078.
- Lipponer K.G., Vogel E., Keppler B.K. Metal-Based Drugs, 1996, v. 3, p. 243.
- Egger A., Arion V.B., Reisner E., Cebrián-Losantos B., Shova S., Tretenhahn G., Keppler B.K., в печати.
- Jamieson E.R., Lippard S.J. Chem.Rev., 1999, v. 99, p. 2467.
- Arion V.B., Reisner E., Fremuth M. e. a. Inorg. Chem., 2003, v. 42, p. 6024.
- Reisner E., Arion V.B., Guedes da Silva M.F.C. e. a. Ibid., 2004, v. 43, p. 7083.
- Jakupec M.A., Reisner E., Eichinger A., Pongratz M., Arion V.B., Galanski M., Hartinger Ch., Keppler B.K. Рукопись готовится.
- Corazza A., Harvey I., Sadler P.J. Eur. J. Biochem., 1996, v. 236, p. 697–705.
- Millis K.K., Weaver K.H., Rabenstein D.L. J. Org. Chem., 1993, v. 58, p. 4144.
- Schluga P., Egger A., Galanski M., Hartinger Ch.G., Keppler B.K. Рукопись готовится.
- Lever A.B.P. Inorg. Chem., 1990, v. 29, p. 1271.
- <http://www.chem.yorku.ca/profs/lever> (домашняя страница A.B.P. Lever).
- Ni Dhubhghaill O.M., Hagen W.R., Keppler B.K., Lipponer K.G., Sadler P.J. J. Chem. Soc., Dalton Trans., 1994, p. 3305.