

Artigo

Complexos de Pt⁴⁺: Estratégia Molecular no Combate ao Câncer

Silva, G. B.;* Vargas, M. D.

Rev. Virtual Quim., 2012, 4 (2), 102-117. Data de publicação na Web: 6 de maio de 2012

<http://www.uff.br/rvq>**Pt⁴⁺ Complexes: Molecular Approach Against Cancer**

Abstract: Since the discovery of the antineoplastic properties of cisplatin novel platinum-based drugs have been designed in order to circumvent the resistance problems and side effects produced by cisplatin-based chemotherapy. A class of compounds that has attracted great interest is that of Pt⁴⁺ complexes. Generally, these complexes behave as prodrugs, the active compound (analogous Pt²⁺ complexes) being released only in the presence of reducing agents, such as glutathione, reductases and nucleosides. These complexes are more inert and therefore less susceptible than their Pt²⁺ counterparts to side reactions in the plasma, which can lead to their inactivation. Various synthetic modifications have been undertaken to modulate the Pt⁴⁺ complexes pharmacokinetic properties, or increase their circulation time in the body, such as the tethering to drug delivery systems and use of target biomolecules, or ligands for photodynamic therapy.

Keywords: Pt⁴⁺ complexes; pro-drugs; antineoplastic activity.

Resumo

Desde a descoberta das propriedades antineoplásicas da cisplatina, novos fármacos à base de platina vêm sendo projetados com a finalidade de contornar os problemas de resistência e os efeitos colaterais exibidos pelo uso quimioterápico da cisplatina. Uma classe de compostos de grande interesse atual é a dos complexos de Pt⁴⁺. Em geral, estes complexos comportam-se como pró-fármacos ao liberarem o fármaco ativo (complexo análogo de Pt²⁺), somente na presença de agentes redutores, como glutatona, redutases e nucleosídeos. Esses complexos são mais inertes que os de Pt²⁺ e, portanto, menos susceptíveis a reações colaterais no plasma, que podem levar à desativação do complexo. Várias modificações sintéticas foram realizadas para modular as propriedades farmacocinéticas dos complexos de Pt⁴⁺, ou para aumentar o tempo de circulação no organismo, como o ancoramento a sistemas de veiculação de fármacos e o uso de biomoléculas sinalizadoras ou de ligantes para a terapia fotodinâmica.

Palavras-chave: Complexos de Pt⁴⁺; pró-fármacos; atividade antineoplásica.

* Universidade Federal Fluminense, Laboratório de Síntese Organometálica, Instituto de Química, Campus do Valonguinho, CEP 24020-150, Niterói, RJ, Brasil.

✉ gustavobezerrads@gmail.com

DOI: [10.5935/1984-6835.20120009](https://doi.org/10.5935/1984-6835.20120009)

Complexos de Pt⁴⁺: Estratégia Molecular no Combate ao Câncer

Gustavo B. da Silva,* Maria D. Vargas

Universidade Federal Fluminense, Laboratório de Síntese Organometálica, Instituto de Química, Campus do Valonguinho, CEP 24020-150, Niterói, RJ, Brasil.

* gustavobezerrads@gmail.com

Recebido em 10 de abril de 2012. Aceito para publicação em 4 de maio de 2012

1. Introdução

1.1. Histórico do desenvolvimento dos complexos de Pt⁴⁺

2. Estrutura e Propriedades dos Complexos de Pt⁴⁺

3. Propostas de Mecanismo de Ação dos Complexos de Pt⁴⁺

4. Novas Estratégias no Desenvolvimento de Complexos de Pt⁴⁺

4.1. Complexos de Pt⁴⁺ acoplados a sistemas de veiculação de drogas e de sinalização molecular

4.2. Complexos de Pt⁴⁺ e a terapia fotodinâmica

5. Considerações Finais

6. Material Suplementar: sítio com atualizações sobre complexos de platina

1. Introdução

Desde a Antiguidade os metais vêm sendo utilizados na Medicina para o tratamento de diferentes doenças.^{1,2} Entretanto, nenhum deles recebeu tanta atenção quanto a platina.³

As propriedades antineoplásicas dos complexos de platina foram descobertas por B. Rosenberg (1964).² Ao avaliar o efeito de campos elétricos no crescimento de culturas de bactérias *Escherichia coli*, Rosenberg observou que, apesar de as bactérias crescerem normalmente (sofriam filamentação), não mais se reproduziam (devido à supressão mitótica). O complexo responsável por esse efeito era a *cis*-[Pt(NH₃)₂Cl₂] – *cis*-diaminodichloroplatina(II) – mais popularmente conhecido como cisplatina, capaz de causar a filamentação, mesmo na ausência de campo elétrico.⁴ Apesar da atividade antineoplásica da cisplatina ter sido descoberta em 1964, esse

complexo já era conhecido, desde 1845, quando foi sintetizado por Peyrone. Sua estrutura foi proposta corretamente por Werner, em 1893² (Figura 1).

A cisplatina entrou em testes clínicos de fase I, em 1971. Em 1978 recebeu o aval do órgão americano *Food and Drugs Administration* (FDA) para uso clínico no tratamento de cânceres genitourinários, e em pouco tempo, seu uso se popularizou nos EUA, uma vez que, as taxas de cura do câncer testicular subiram de 10% para cerca de 90% após o seu uso.⁵ Na última década, fármacos à base de platina representaram um mercado anual da ordem de um bilhão de dólares⁶ (Figura 1). Atualmente a cisplatina é utilizada em cerca de 50% dos tratamentos quimioterápicos.⁷

Em publicação recente, neste periódico, apresentamos uma revisão sobre complexos de Pt²⁺ na terapia do câncer.³ A seguir, descrevemos os estudos que levaram ao desenvolvimento dos complexos de Pt⁴⁺ como agentes anticâncer e os desenvolvimentos recentes desta área.

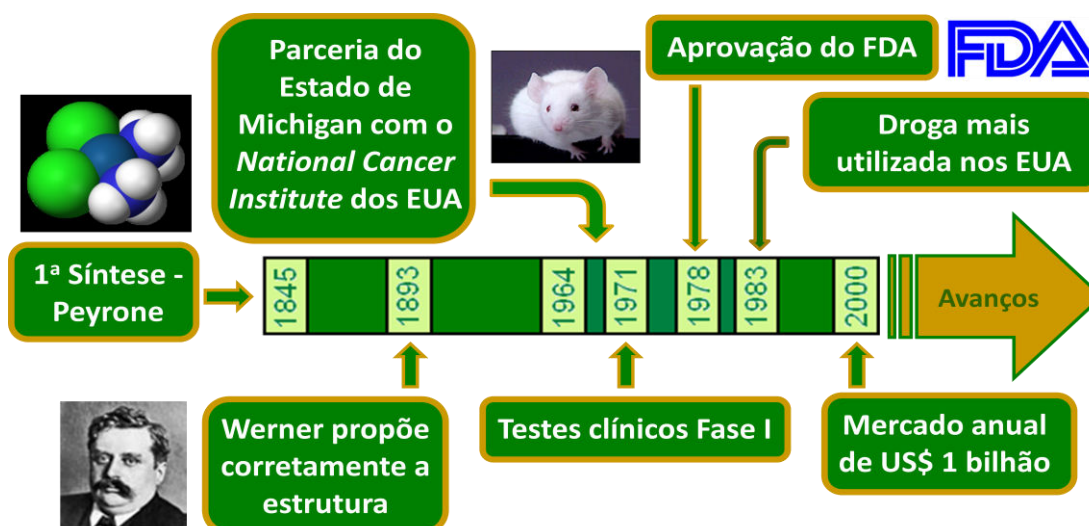


Figura 1. Histórico do desenvolvimento da cisplatina como fármaco para o tratamento do câncer⁸

1.1. Histórico do desenvolvimento dos complexos de Pt⁴⁺

O potencial citotóxico dos complexos de Pt⁴⁺ já era conhecido desde a descoberta da atividade antineoplásica da cisplatina.⁹ Rosenberg e colaboradores mostraram que os complexos de Pt⁴⁺, também identificados entre os produtos da eletrólise do eletrodo de platina, nos experimentos de indução de crescimento da *E. coli*, exibiam efeitos distintos sobre o crescimento (desenvolvimento) e a divisão (multiplicação) celulares destas bactérias, sendo o ânion bivalente [PtCl₆]²⁻ um eficiente inibidor do crescimento bacteriano, e o complexo neutro *cis*-[PtCl₄(NH₃)₂], responsável pela inibição dos processos

de divisão celular.⁹

Desde então, vários estudos envolvendo complexos de Pt⁴⁺ foram realizados. Após mais de 45 anos de pesquisa, somente três drogas à base de Pt⁴⁺: satraplatina **1**, iproplatina **2** e tetraplatina ou ormaplatina, **3**, também conhecidas como drogas de 3ª geração (Figura 2), chegaram aos testes clínicos, porém nenhuma delas, até hoje, recebeu aprovação do FDA para uso clínico.¹⁰ A iproplatina **2** e a tetraplatina **3** inicialmente mostraram-se promissoras, porém foram descartadas após testes clínicos preliminares, principalmente devido à alta toxicidade.¹¹

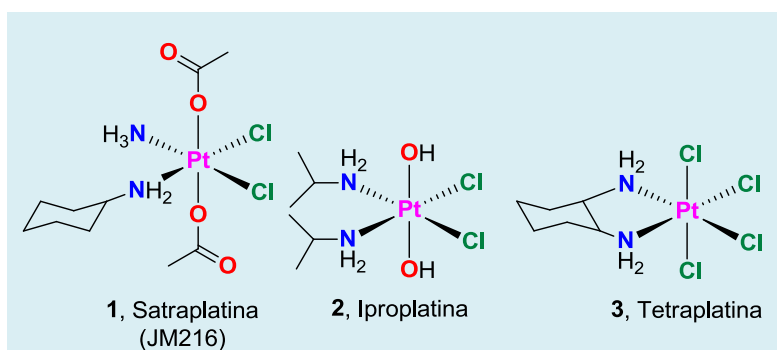


Figura 2. Complexos de Pt⁴⁺ com atividade antineoplásica que chegaram à fase de testes clínicos

O complexo de Pt⁴⁺ mais estudado é o bis(acetato-O)aminodicloro(ciclo-hexilamina)platina(IV), também conhecido como satraplatina **1** ou JM216. Trata-se do primeiro complexo de platina administrado oralmente

e com atividade contra células de cânceres humanos resistentes à cisplatina.^{10,12} A administração oral de agentes quimioterápicos apresenta várias vantagens sobre a intravenosa: facilidade de administração,

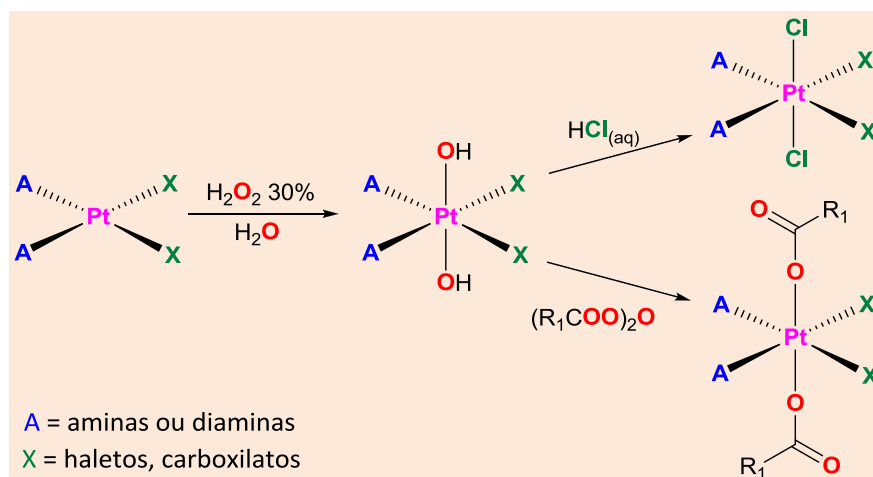
redução do tempo do doente em hospital, diminuição dos custos e redução das complicações relacionados com a aplicação intravenosa.¹²

Desde 2001 a satraplatina **1** vem sendo submetida a testes clínicos de fase I, II e III, em conjunto com outros fármacos, principalmente nos tratamentos do câncer de próstata e de tumores sólidos em estágio avançado.¹³ Após mais de 10 anos de testes clínicos, mostrou atividade citotóxica similar à da carboplatina (*cis*-diamino-1,1-ciclobutanocarboxilatoplatina(II)), porém com menores efeitos nefrotóxicos, neurotóxicos e ototóxicos, com resposta positiva dos pacientes, indicando que é bem melhor tolerada que a cisplatina.¹²

Nos últimos anos, vários outros complexos de Pt⁴⁺ análogos à satraplatina **1** foram desenvolvidos, na tentativa de se modular suas propriedades farmacológicas.¹⁴ Na sessão a seguir, a reatividade de complexos de Pt⁴⁺ será discutida brevemente, e em seguida, serão descritas algumas novas moléculas desenvolvidas a partir da satraplatina.

2. Estrutura e Propriedades dos Complexos de Pt⁴⁺

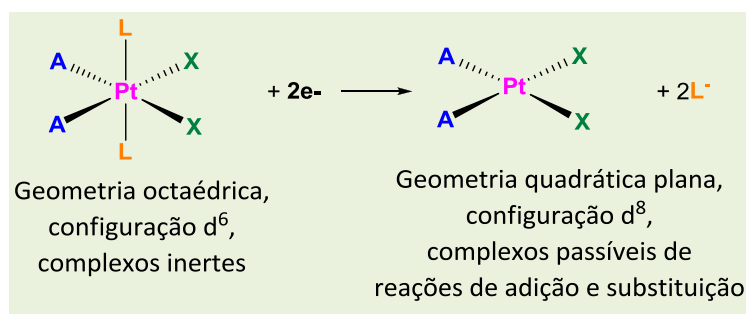
Em geral, os complexos de Pt⁴⁺ são obtidos pela oxidação de complexos quadráticos planos de Pt²⁺ (d⁸) do tipo [PtA₂X₂] (X = haletos, carboxilatos e A₂ = duas aminas ou uma diamina). O agente oxidante comumente utilizado é o peróxido de hidrogênio 30%, em H₂O (veja Esquema 1). Os complexos hexacoordenados de Pt⁴⁺ resultantes contêm dois ligantes hidróxido nas posições axiais. Os complexos octaédricos de Pt⁴⁺, d⁶, são relativamente inertes (pouco reativos), devido à alta energia de estabilização do campo cristalino (EECC).¹⁵ Apesar disto, os ligantes hidróxido podem ser substituídos por ligantes carboxilato ou cloreto, através das reações com os respectivos anidridos ou HCl, respectivamente.¹⁶



Esquema 1. Metodologia geral para obtenção de complexos de Pt⁴⁺

Diferentemente dos análogos de Pt²⁺, esses complexos são pró-fármacos.¹⁷ Acredita-se que para se tornarem ativos, precisam ser reduzidos. Uma

variedade de biomoléculas é capaz de reduzi-los, formando complexos de Pt²⁺ ativos, em geral, com a liberação dos dois ligantes axiais¹⁶ (Esquema 2).



Esquema 2. Conversão dos complexos de Pt⁴⁺ nos de Pt²⁺ por redução

A principal limitação dos complexos de Pt^{2+} é que podem reagir com diversas biomoléculas no sangue, especialmente aquelas que contêm átomos de enxofre pelo qual a Pt^{2+} tem grande afinidade.¹⁸ Dessa forma, a quantidade de complexo de Pt^{2+} que chega ao núcleo celular e que se liga às bases nitrogenadas do DNA causando dano e levando à apoptose é pequena.¹⁹ Por isso, uma das grandes vantagens dos complexos de Pt^{4+} em relação aos de Pt^{2+} é justamente essa baixa reatividade. Podem ser

administrados oralmente, sobrevivendo às condições ácidas no estômago, além de resistirem ao meio encontrado no trato gastrointestinal,²⁰ e se mantêm intactos na corrente sanguínea, até alcançar seu alvo na célula.

A satraplatina **1** (Figura 2) serviu como ponto de partida para o planejamento de vários complexos análogos de Pt^{4+} . Variaram-se os ligantes axiais e as aminas, para modificar a lipofilicidade, a reatividade e, portanto a citotoxicidade dos complexos (Figura 3).

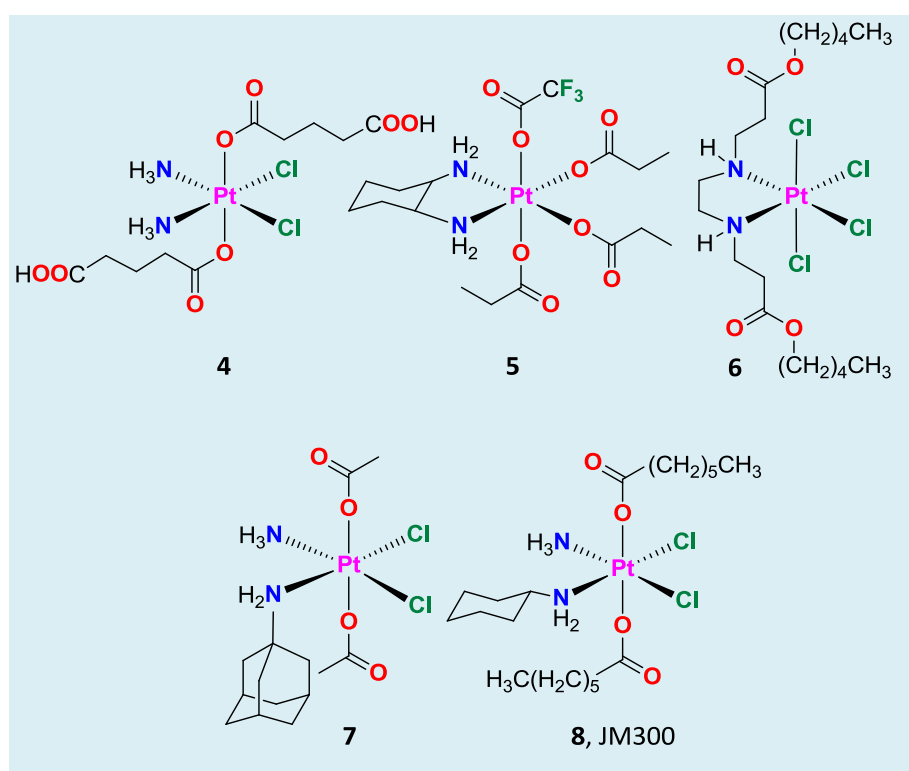


Figura 3. Estruturas de alguns complexos de Pt^{4+} que apresentam atividade citotóxica *in vitro*

O complexo *cis,cis,trans*-[PtCl₂(NH₃)₂-(OCOC₃H₆COOH)₂] **4**, por exemplo, foi capaz de matar células de glioma em doses menores que a cisplatina.²¹ O complexo **5** ([Pt(dach)(OCOC₂H₅)₃-(OCOCF₃)] (dach = 1,2-diaminociclo-hexano) apresentou boa atividade contra leucemia (ED₅₀ = 1,3 μ M), atribuída à sua alta lipofilicidade.²² O complexo **6**, [PtCl₄(dveddp)], (dveddp = *N,N'*-di-(3-propanoate de *n*-pentila)etilenodiamina)) induziu a morte celular *in vitro* de forma mais rápida que a cisplatina.²³ Já o complexo **7**, *cis,cis,trans*-[PtCl₂(Am)(NH₃)(CCH₃COO)₂] (Am = adamantilamina), conhecido também como LA-12, contendo um ligante amina volumoso e hidrofóbico, apresentou alta citotoxicidade contra uma série de linhagens de células cancerosas

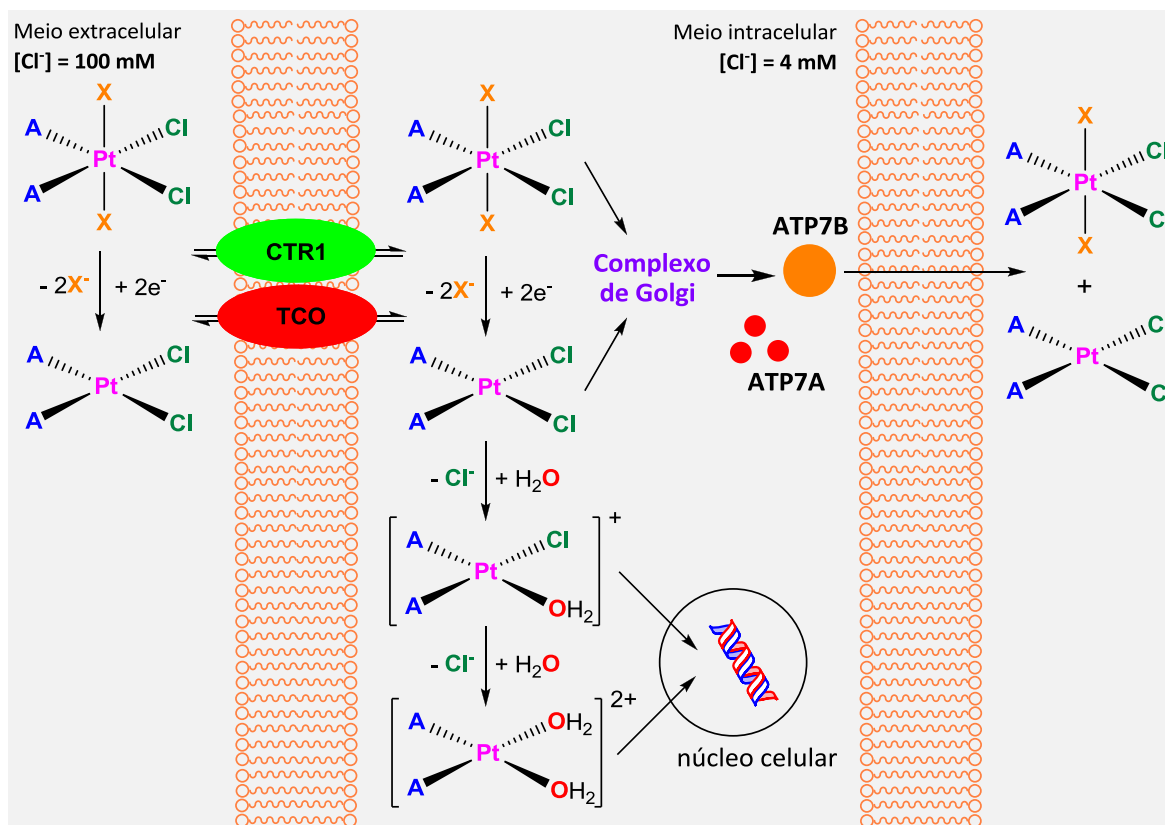
resistentes à cisplatina.¹⁹ O JM300 **8** mostrou-se cerca de 840 vezes mais ativo que a cisplatina em ensaios *in vitro* com linhagens de células ovarianas cancerosas resistentes a este fármaco.²⁴ Este resultado foi atribuído à maior acumulação celular (“uptake”), possivelmente devido à sua maior lipofilicidade comparada à da cisplatina. Porém nos testes *in vivo*, observou-se que a redução ocorria de forma rápida, logo a liberação dos ligantes axiais fazia com que os complexos ficassem menos lipofílicos.^{11,25}

3. Propostas de Mecanismo de Ação dos Complexos de Pt⁴⁺

Inicialmente, acreditava-se que a redução dos complexos de Pt⁴⁺ ocorria extracelularmente, sendo o ácido ascórbico e as proteínas contendo grupamentos tióis alguns dos exemplos de agentes biorredutores mais prováveis.²⁶ Em seguida, o complexo de Pt²⁺ entraria na célula e se ligaria ao DNA, levando ao processo de morte celular conhecido como apoptose,^{18,27} atuando, portanto, através de mecanismo de ação semelhante ao da cisplatina e de seus análogos (*cis*-[PtCl₂(NHRR')₂]).²⁸

Atualmente sabe-se que os complexos de Pt⁴⁺ podem sofrer redução dentro ou fora da célula.²⁹ Ambos complexos de Pt²⁺ e Pt⁴⁺ são acumulados

intracelularmente pela ação dos transportadores de cobre CTR1, ou transportadores catiônicos orgânicos TCO (ambos, reguladores do processo de influxo), mas podem ser retirados da célula pela ação dos exportadores de cobre à base de adenosina trifosfato (ATP7A e ATP7B) que regulam o efluxo celular.¹⁹ Uma vez dentro da célula, os complexos de Pt⁴⁺ são reduzidos, levando ao deslocamento do equilíbrio no sentido de favorecer o acúmulo celular dos complexos de Pt⁴⁺ e, conseqüentemente, ao aumento da concentração dos complexos de Pt²⁺. Como a concentração de íons cloreto intracelular é baixa (4 mmol.L⁻¹), os complexos de Pt²⁺ são facilmente hidrolisados, com a formação de *cis*-[PtCl(NH₃)₂(H₂O)]⁺ e *cis*-[Pt(NH₃)₂(H₂O)₂]²⁺. Esses aquacomplexos de platina interagem com as bases nitrogenadas do DNA, resultando na ação citotóxica^{18,28,29} (Esquema 3).



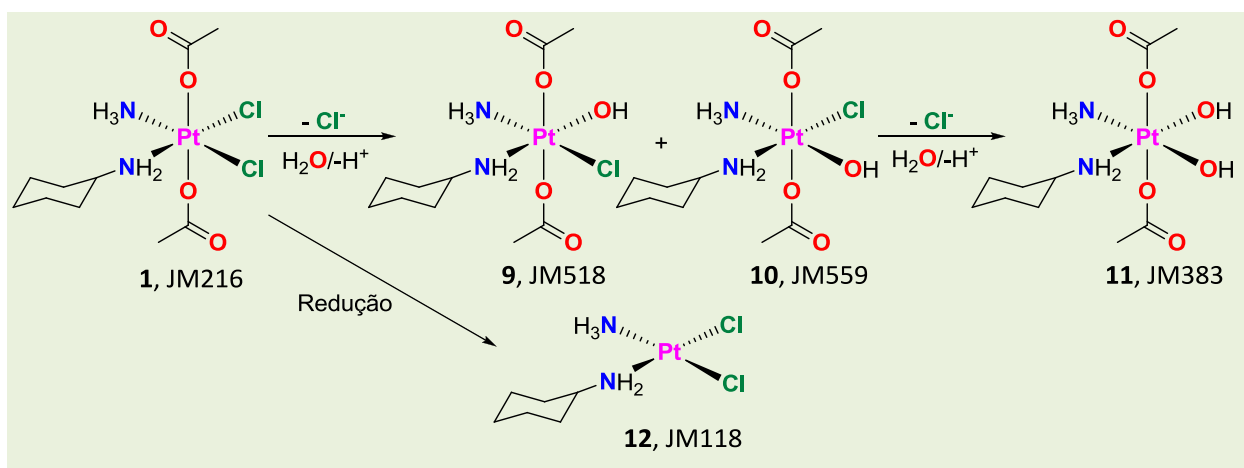
Esquema 3. Representação esquemática do acúmulo celular e do mecanismo de ação dos complexos de Pt²⁺ análogos à cisplatina

O mecanismo de ação da satraplatina **1** (JM216) foi bastante estudado, devido à reconhecida atividade e ao potencial deste composto. Os seguintes caminhos metabólicos foram evidenciados (Esquema 4):

a) Redução pela glutatona, ácido ascórbico ou ascorbato, ou outros agentes biorredutores, com a geração do complexo ativo JM118 (**12**);

b) Biotransformações (aquação e hidrólise) até formar o metabólito ativo JM383 (**11**);

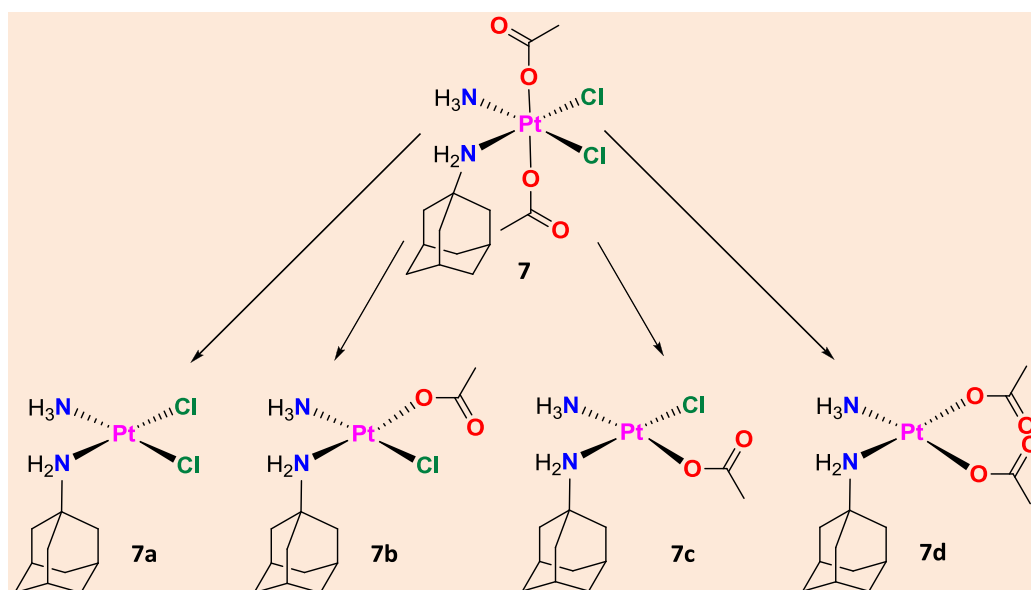
c) Interação com o DNA, com a formação de adutos, porém em menor escala.³⁰



Esquema 4. Biotransformações possíveis da satraplatina (1) (JM216).³⁰

Outro complexo de Pt⁴⁺, cujo mecanismo de ação vem sendo bastante investigado, é o *cis,cis,trans*-[PtCl₂(Am)(NH₃)(CCH₃COO)₂] (Am = adamantilamina), **7** (Figura 3). Estudos de RMN de ¹H, ¹³C e ¹⁵N mostraram que este complexo é reduzido por

ascorbato de sódio, com a formação de uma mistura de produtos resultantes da dissociação, tanto dos ligantes carboxilato, quanto dos cloretos. Este estudo evidencia que a liberação dos ligantes axiais é um dos possíveis caminhos de reação³¹ (Esquema 5).



Esquema 5. Produtos da redução do complexo *cis,cis,trans*-[PtCl₂(Am)(NH₃)(CCH₃COO)₂] (Am = adamantilamina) **7** na presença de ascorbato de sódio³¹

A natureza dos ligantes (orgânicos e inorgânicos, nas posições equatoriais e axiais) nos complexos de Pt⁴⁺ tem influência na velocidade de redução,^{16,22} na natureza do complexo de Pt²⁺ formado (isto é, nas velocidades relativas de dissociação dos ligantes, quando da redução), na lipofilicidade (acumulação celular),³² e até no tipo de sinalização molecular.²⁹ Como a facilidade de redução dos complexos de Pt⁴⁺ a Pt²⁺ tem sido associada à atividade citotóxica,²⁹ estudos sistemáticos foram realizados para melhor compreender estes sistemas.^{33,34}

Ligantes fortemente retiradores de densidade eletrônica, como íons cloreto e acetato, deixam o centro de Pt⁴⁺ mais pobre em densidade eletrônica, o que favorece termodinamicamente a redução do centro metálico a Pt²⁺. De fato, na série de complexos contendo ligantes equatoriais cloreto e amina *cis,cis,trans*-[PtCl₂(en)(L_{axial})₂], os potenciais de redução catódicos aumentam na seguinte ordem: L_{axial} = OH < OCOCH₃ < Cl < OCOCF₃. Foi mostrado que as velocidades de redução por ascorbato e a citotoxicidade variam na mesma ordem.³³ Por esta

razão, a correlação entre potencial e velocidade de redução tem funcionado como um guia no planejamento de novos complexos de Pt^{4+} .

O tamanho dos ligantes equatoriais e axiais também tem influência no processo de redução desta classe de compostos. Por exemplo, ascorbato não é capaz de reduzir o complexo *cis,cis,trans*-[PtCl₂(en)(OH)₂] (en = etilenodiamina), mas reduz o complexo análogo iproplatina **2** (*cis,cis,trans*-[PtCl₂(ipa)₂(OH)₂], ipa = isopropilamina, Figura 2).^{29,33} De modo semelhante, a satraplatina **1** (*cis,cis,trans*-[PtCl₂NH₃(NH₂Cy)(OCOCH₃)₂], Figura 2) é reduzida pelo ácido ascórbico mais rapidamente que o complexo análogo contendo OCOC₃H₇ no lugar dos ligantes axiais acetato. Estas diferenças foram atribuídas ao menor efeito estérico da etilenodiamina e do acetato, respectivamente, e à consequente estabilização dos complexos hexacoordenados em detrimento aos complexos tetracoordenados de Pt^{2+} .³³

Os estudos subsequentes de redução,³⁵ por ácido ascórbico (em meio tamponado no pH 7,3), da série de complexos *cis*-[PtCl₄(NH₃)₂] **13**, *cis*-[PtCl₂(NH₃)₄] **14**, *cis,cis,trans*-[PtCl₂(NH₃)₂(OH)₂] **15** e iproplatina **2**

(*cis,cis,trans*-[PtCl₂(ipa)₂(OH)₂]) (Figura 4) revelaram que o processo é catalisado pelos complexos de Pt^{2+} gerados, sendo a velocidade da redução acelerada, em todos os casos, pela adição do complexo de Pt^{2+} *cis*-[PtCl₂(NH₃)₂].

Este tipo de catálise lembra o mecanismo clássico que Basolo e Pearson propuseram para reações de substituição em complexos de Pt^{4+} catalisadas por Pt^{2+} .³⁶ Neste mecanismo, a transferência de elétrons entre os centros de Pt^{4+} e Pt^{2+} é mediada por um ligante em ponte. O estado ativado proposto encontra-se ilustrado na Figura 4. Contém um ascorbato coordenado ao centro de Pt^{2+} , o qual, por sua vez, se encontra ligado ao complexo de Pt^{4+} através de uma ponte μ -X (X = ligantes *trans* = Cl⁻ ou OH⁻). A velocidade da redução depende da capacidade de os ligantes formarem a ponte entre os centros de Pt^{4+} e Pt^{2+} e do impedimento estérico dos ligantes amino. Na série, o complexo reduzido mais rapidamente foi o *cis*-[PtCl₄(NH₃)₂], enquanto o complexo *cis,cis,trans*-[PtCl₂(ipa)₂(OH)₂] foi o que sofreu redução mais lenta.

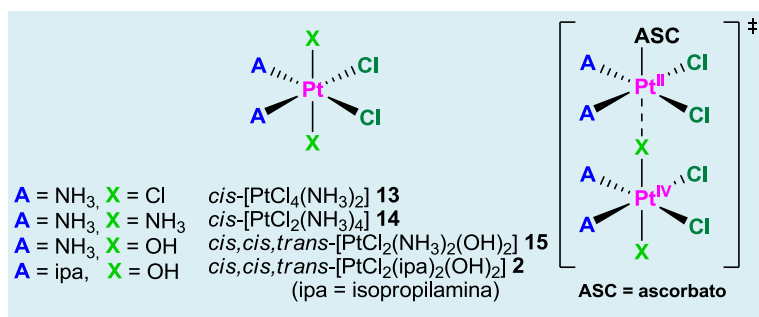
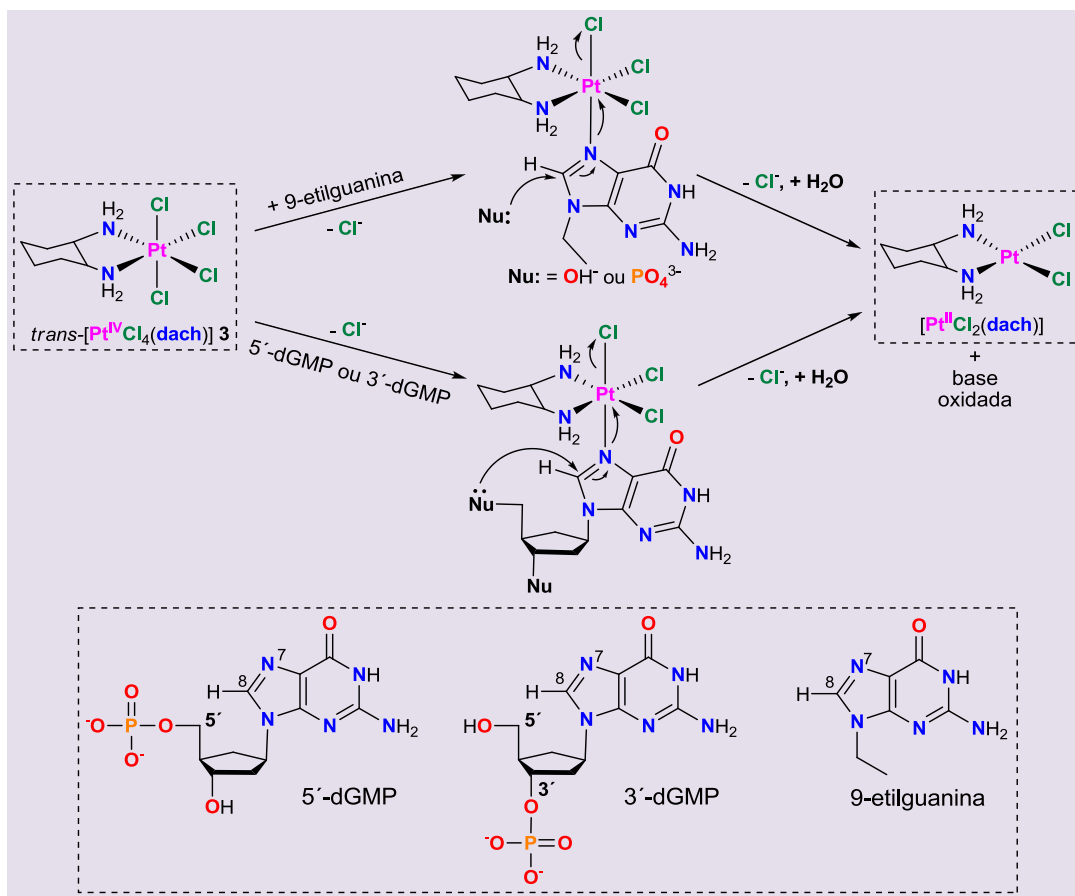


Figura 4. Complexos de Pt^{4+} cuja redução por ácido ascórbico é catalisada por complexos de Pt^{2+} . Estado ativado proposto, baseado no mecanismo de Basolo e Pearson de reações de substituição em complexos de Pt^{4+} catalisadas por Pt^{2+}

Embora a redução por agentes biorredutores seja a principal via de ação dos complexos de Pt^{4+} , diversos estudos *in vitro* mostraram que, intracelularmente, esses complexos podem ligar-se diretamente ao DNA, promovendo modificações químicas e estruturais.^{35,37,38}

O mais reativo dentre os complexos estudados, a tetraplatina **3** ([PtCl₄(dach)]), oxida várias bases do DNA derivadas da guanina, por exemplo, 5'-dGMP,³⁹ 3'-dGMP,⁴⁰ 9-etilguanina⁴¹ (Esquema 6), assim como sequências de bases. Este processo ocorre em duas etapas: i) substituição de um ligante cloreto pela base do DNA, que se coordena à Pt^{4+} através do N7 e torna o C8 deficiente em densidade eletrônica e ii)

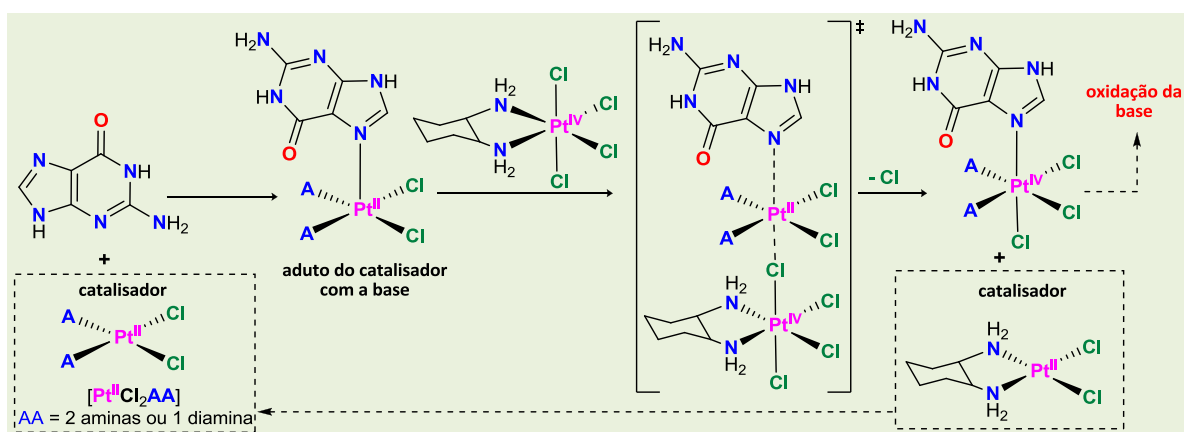
transferência eletrônica, iniciada pelo ataque nucleofílico ao C8 da base coordenada, por nucleófilos externos⁴¹ ou intramoleculares³⁷ (OH⁻ ou PO₄³⁻), gerando intermediários (cíclicos, no segundo caso) que, por sua vez, sofrem hidrólise para formar a base oxidada. A velocidade da transferência eletrônica, que culmina na oxidação da base, depende da velocidade de formação do intermediário, assim como do potencial de redução do complexo de Pt^{4+} .³⁷ Algumas bases, por exemplo, a 9-metilxantina,⁴⁰ não são oxidadas, nem pela tetraplatina, isto é, não ocorre transferência eletrônica e o produto final é o aduto de Pt^{4+} com a base.



Esquema 6. Mecanismo proposto para as reações da tetraplatina **3** com derivados da guanina (G)³⁹⁻⁴¹

Foi demonstrado que a substituição do ligante cloreto pelas bases 5'- e 3'-dGMP (G) nos complexos de Pt^{4+} $[PtCl_4(en)]$ ($en =$ etilenodiamina) e $[PtCl_4(dach)]_3$ ³⁷ é catalisada por complexos de Pt^{2+} , através do mecanismo clássico de Basolo e

Pearson.^{36,42} Como ilustrado no Esquema 7, a substituição pode ser vista, formalmente, como resultando da adição oxidativa, ao catalisador, de um ligante cloreto do complexo de Pt^{4+} e de uma G.



Esquema 7. Formação do estado ativado na reação de substituição de cloreto por guanina na $[PtCl_4(dach)]_3$, catalisada por complexo de Pt^{2+} ($[PtCl_2(dach)]$ ou do tipo $[Pt^{II}Cl_2(AA)]$ ($AA = 2$ aminas ou 1 diamina): mecanismo de Basolo e Pearson)⁴²

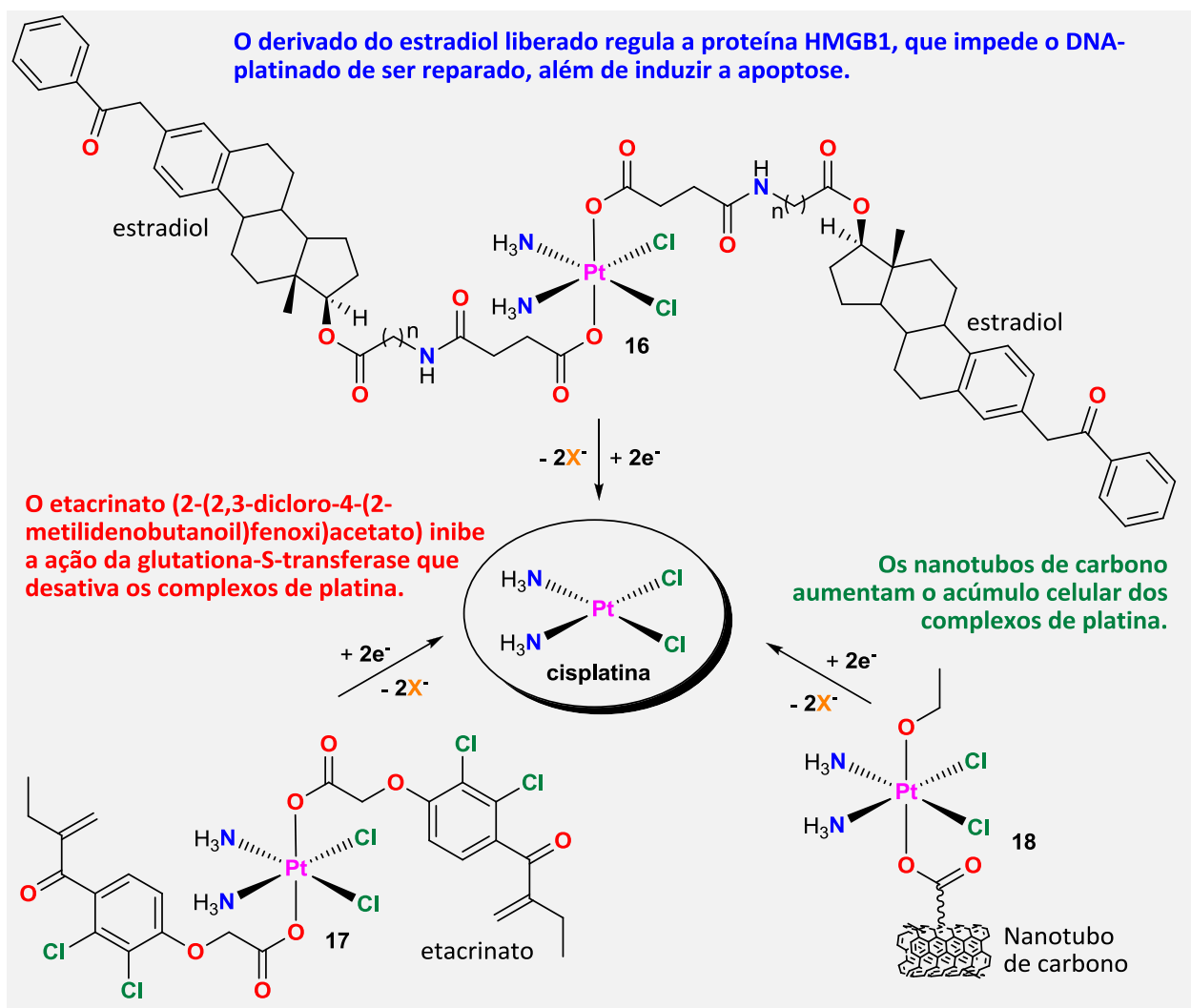
A presença de ligantes halogenetos nas posições axiais do complexo de Pt^{4+} é essencial para que esta substituição ocorra. De fato, os complexos *cis,trans*- $[PtCl_2(en)(OH)_2]$, *cis,trans*- $[PtCl_2(en)(OCOCF_3)_2]$ e a satraplatina **1** (Figura 2) não reagem com a 5'-dGMP.

As velocidades de substituição dependem do impedimento estérico nos complexos de Pt^{4+} e Pt^{2+} e na base, assim como da natureza do ligante halogeneto nas posições axiais. As reações mais rápidas foram catalisadas pelos complexos de Pt^{2+} menos impedidos. A 3'-dGMP reagiu mais rapidamente que 5'-dGMP, e o complexo $[PtCl_4(en)]$ sofreu substituição mais rápida que $[PtCl_4(dach)]$. Além disto, o complexo $[PtBr_4(en)]$ reagiu ainda mais rapidamente que o análogo contendo ligantes cloreto, mostrando que quanto maior o halogeneto, maior sua capacidade em formar a ponte entre os dois centros metálicos.⁴²

4. Novas estratégias no desenvolvimento de complexos de Pt^{4+}

4.1. Complexos de Pt^{4+} acoplados a sistemas de veiculação de drogas e sinalização molecular

Recentemente foram descritos, na literatura, vários trabalhos cujo foco é acoplar, a ligantes axiais carboxilato, moléculas que atuem, não somente aumentando a acumulação celular da platina, mas também sua eficiência. Tais ligantes planejados são liberados, quando os complexos de Pt^{4+} são reduzidos (Esquema 8).⁴³⁻⁴⁶



Esquema 8. Inovações na área de complexos de Pt^{4+} que facilitam seu acúmulo celular e aumentam sua eficiência⁴³⁻⁴⁶

Por exemplo, sabendo-se que células tumorais com receptores positivos (ER(+)) de estrogênio, quando tratadas com esse hormônio, são sensíveis à cisplatina, um derivado do estradiol foi ancorado ao complexo *cis,cis,trans*-[PtCl₂(NH₃)₂-(succinato)₂], através do ligante axial succinato, e sua atividade foi potencializada.⁴³

Tendo em vista a ação inibitória do ácido etacrínico sobre as enzimas glutationa-S-transferases (GST), responsáveis pelo desenvolvimento da resistência de alguns cânceres, sintetizou-se o *cis,cis,trans*-[PtCl₂(NH₃)₂L₂] (L = etacrinato), o qual se mostrou citotóxico e, como antecipado, capaz de inibir a ação da GST.^{44,45}

Tática semelhante foi empregada por Lippard e colaboradores, para ancorar sistemas de veiculação de fármacos à base de nanotubos de carbono de uma única parede (SWNT, do inglês “*single-walled nanotubes*”) a um complexo de Pt⁴⁺ precursor da cisplatina.^{46,47} Os SWNT transportam moléculas de vários tamanhos e tipos por endocitose⁴⁸ e, por não serem tóxicos, vêm sendo bastante investigados para este fim. O uso de nanocarreadores para fármacos de platina tem se mostrado uma estratégia eficiente para aumentar seu tempo de circulação no organismo, e consequentemente seu acúmulo celular.⁴⁹

Um sistema contendo 65 complexos de Pt⁴⁺ por SWNT foi obtido, através da formação de ligações amida entre o complexo *cis,cis,trans*-[PtCl₂(NH₃)₂-(OEt)(O₂CCH₂CH₂CO₂H)] e o SWNT, cuja superfície foi modificada com fosfolipídeos, para aumentar sua solubilidade, e funcionalizada com amina. O emprego deste sistema, de fato, levou ao aumento da concentração de platina intracelular, quando comparado, tanto com o complexo precursor de Pt⁴⁺, que não contém o SWNT, quanto com a cisplatina.⁴⁶

Em trabalho subsequente,⁴⁹ Lippard e colaboradores ancoraram, em um mesmo complexo, um precursor da cisplatina (Figura 5), o sistema de entrega, SWNT, que facilita o transporte dessa droga pelo organismo, e um fragmento sinalizador derivado do ácido fólico. O ácido fólico (AF) é reconhecido pelos receptores folatos (α-RF), presentes em maior quantidade nas superfícies celulares de alguns tipos de células tumorais, como por exemplo, de carcinomas ovarianos,⁵⁰ e por isto, tem sido usado, tanto no diagnóstico, quanto na terapêutica destes cânceres (do tipo FR(+)). Os estudos demonstraram que o sistema AF-Pt⁴⁺-SWNT destruiu com maior eficiência células de linhagens de câncer do tipo, FR(+),⁵⁰ que as de câncer do tipo FR(-), isto é que não expressam grande quantidade de α-RF.

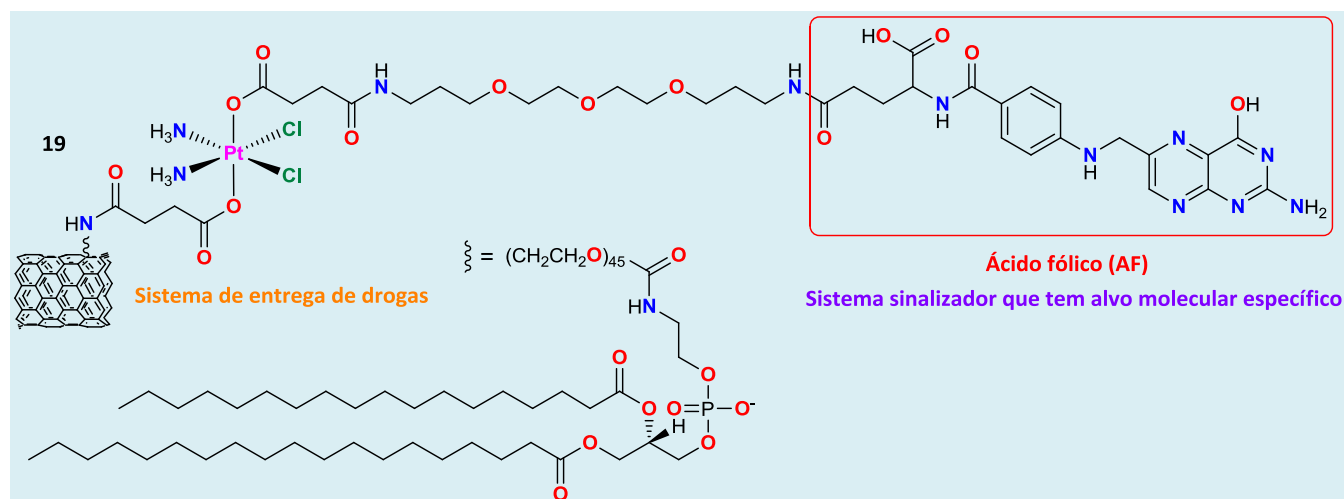


Figura 5. Complexo de Pt⁴⁺ ancorado a nanotubos de carbono (SWNT)

Outros sistemas têm sido investigados para a veiculação de complexos de Pt⁴⁺.¹⁴ Uma das abordagens descritas na literatura envolve o encapsulamento de complexos de Pt⁴⁺ em nanopartículas poliméricas, cuja superfície funcionalizada permite ancorar peptídeos, anticorpos e aptâmeros, que impedem a degradação e aumentam o acúmulo celular.¹⁴

Um antígeno bastante específico para células tumorais de próstata é o PSMA (do inglês, *prostatespecific membrane antigen*). Dhar e colaboradores utilizaram nanopartículas funcionalizadas com poli(ácido D,L-lático-co-glicólico) (PLGA) e polietileno-glicol (PEG) para encapsular complexos de Pt⁴⁺ hidrofóbicos, e ancoraram, à superfície das nanopartículas, os aptâmeros PSMA, específicos para células tumorais de próstata⁵¹ (Figura

6). A liberação do composto ativo de Pt^{2+} se deu de maneira controlada, em seguida à liberação dos

complexos de Pt^{4+} e sua redução.¹⁴

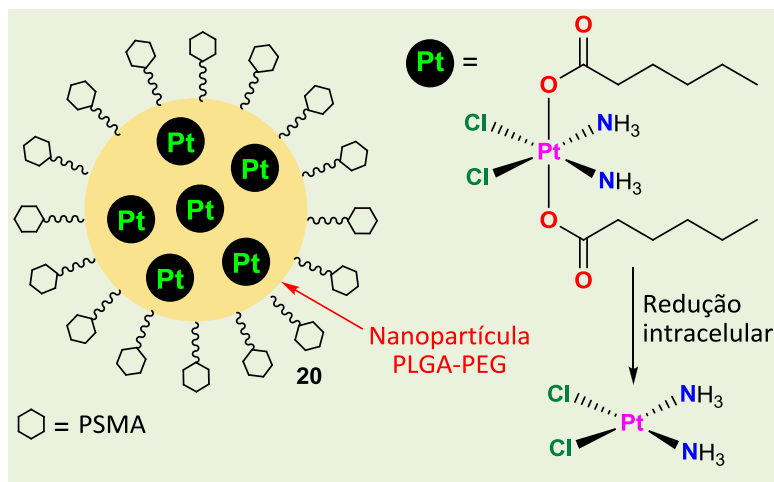
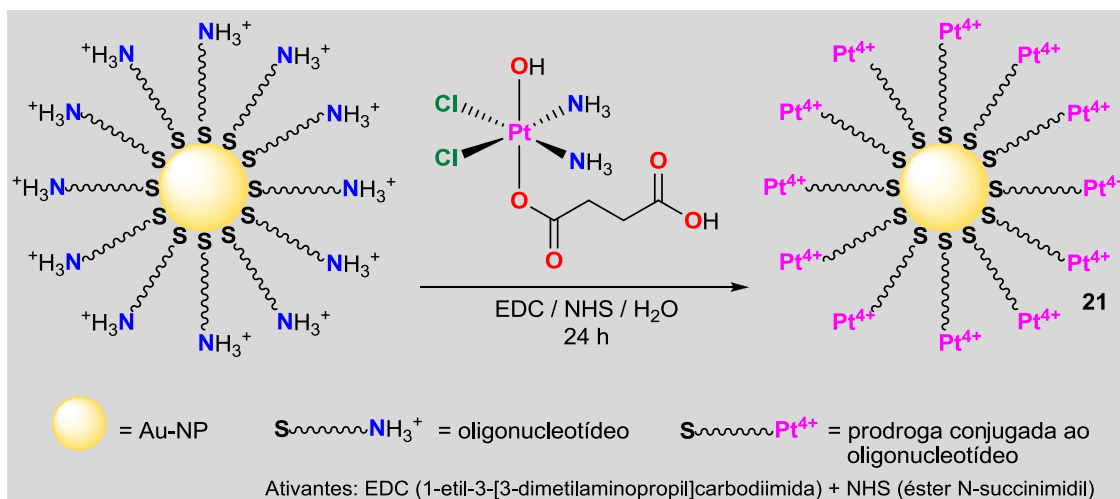


Figura 6. Sistema formado pelo complexo de Pt^{4+} precursor da cisplatina encapsulado em nanopartículas de PLGA-PEG e processo de liberação controlada da cisplatina⁵¹

Outro sistema estudado por Dhar e colaboradores baseia-se no uso de complexos de Pt^{4+} ligados a oligonucleotídeos e ancorados a nanopartículas de ouro (Au-NP), que são fortemente absorvidas pela célula, além de serem resistentes à degradação enzimática e não apresentarem toxicidade.⁵² Como ilustrado no Esquema 9, as Au-NP são funcionalizadas com o oligonucleotídeo 12-amino-dodeciltiol. Em condições apropriadas, o complexo de Pt^{4+} contendo

um ligante axial dicarboxilato é ancorado às Au-NP modificadas através de formação de ligação amida.⁵³ Dessa forma, o complexo de Pt^{4+} pode circular pela corrente sanguínea e atingir o alvo terapêutico antes da redução intracelular. Os dados de espectroscopia de fluorescência mostraram que após 6 h, o composto localizava-se nas vesículas celulares, e após 12 h, no citosol.¹⁴



Esquema 9. Nanopartículas de ouro (AuNP) contendo complexos de Pt^{4+} ancorados *via* oligonucleotídeos¹⁴

4.2. Complexos de Pt^{4+} em terapia fotodinâmica

A fotoativação de fármacos ou pró-fármacos permite controlar sua dosagem e seu tempo de ação no organismo. Fármacos fotoativos podem ser utilizados na Terapia Fotodinâmica (PDT –

Photodynamic Therapy) que é um tratamento que se mostrou bastante efetivo no combate aos cânceres de pele, pulmão, cérebro e esôfago.⁵⁴ A grande vantagem dessa terapia é a sua alta seletividade, já que a droga pode ser levada a atuar somente no sítio desejado.⁵⁵ Entretanto uma das limitações dessa técnica é a necessidade de oxigênio, o que torna o seu

uso no tratamento de cânceres em regiões em hipóxia (onde as concentrações de O_2 são baixas) inviável.^{17,56}

O uso de complexos de metais de transição redutíveis, por exemplo, de platina e ródio,⁵⁷ pode contornar o problema das células tumorais em hipóxia, uma vez que sua fotoativação não depende da concentração de O_2 . A droga pode então ser

gerada num sítio específico, ou seja, no tumor, e assim exercer sua atividade citotóxica. Recentemente uma nova classe de pró-fármacos fotoativos, à base de Pt^{4+} , contendo, em sua esfera de coordenação o grupo azida, foi desenvolvida pelo grupo de Sadler.⁵⁸ (Figura 7).

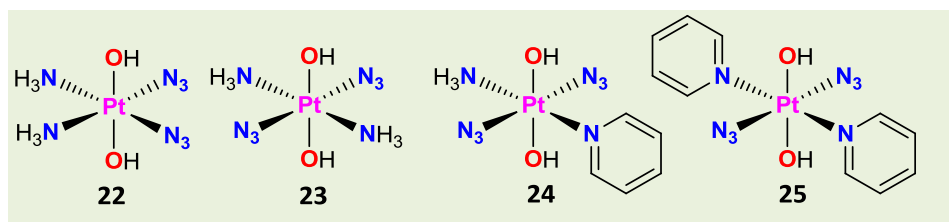
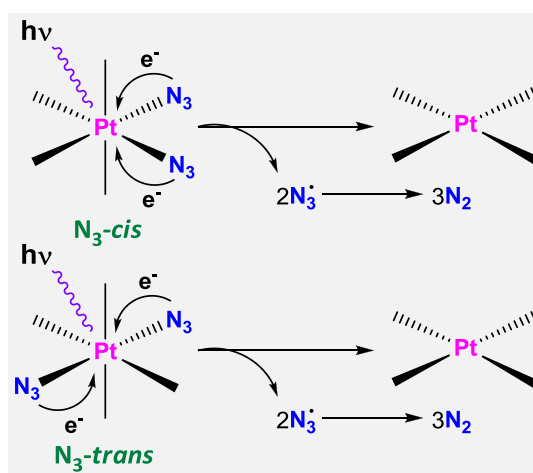


Figura 7. Drogas *cis*- e *trans*- Pt^{4+} com ligantes azida fotocitotóxicas

Alguns desses pró-fármacos mostraram-se cerca de 90 vezes mais ativos que a cisplatina, mas somente quando irradiadas no UV-Vis (fotoativação), ou seja, na ausência de luz os compostos são inativos. Sob efeito da radiação, dois ligantes azida, nos complexos *cis* e *trans* de Pt^{4+} , reduzem o centro metálico a Pt^{2+} , liberando dois radicais N_3 , os quais reagem entre si,

com a formação de três moléculas de N_2 ⁵⁹ (Esquema 10). A descoberta da atividade do isômero *trans*, o potencial precursor da *trans*platina (que é inativa), é notável.⁶⁰ Os dados de modelagem molecular e de espectroscopia no UV-Vis evidenciam, nos complexos iniciais, o processo de transferência de carga do ligante azida para o metal ($N_3^- \rightarrow Pt^{4+}$).⁶¹



Esquema 10. Fotorredução dos complexos diazido de Pt^{4+}

O complexo de Pt^{4+} *trans,trans,trans*- $[Pt(N_3)_2(OH)_2(py)_2]$ **25**, contendo duas piridinas (py), mostrou-se forte candidato para uso em fotoquimioterapia, uma vez que pode ser ativado por baixas doses de exposição à luz UVA e no visível nas regiões do azul e do verde.⁶²

5. Considerações Finais

Os fármacos à base de platina ocupam, nos dias de hoje, um papel crucial no tratamento quimioterápico do câncer. Por esta razão, fármacos mais ativos que a cisplatina e com uma menor gama de efeitos colaterais estão sob intensa investigação. Inicialmente as pesquisas se limitaram ao desenvolvimento de complexos análogos à cisplatina, porém nos últimos

anos, intensificou-se o interesse por complexos de Pt⁴⁺.

Os complexos de Pt⁴⁺ destacam-se pela sua inércia, em relação aos de Pt²⁺, o que permite que uma maior quantidade do fármaco de Pt⁴⁺ administrado chegue ao seu alvo. Embora o mecanismo de ação destes compostos ainda não esteja totalmente esclarecido, sabe-se que os ligantes axiais e equatoriais desempenham papel fundamental na modulação das propriedades farmacocinéticas e, portanto, na sua atividade citotóxica. A redução por agentes biorredutores é a principal via de ação dos complexos de Pt⁴⁺, porém estes complexos também podem, em menor escala, ligar-se diretamente ao DNA, promovendo modificações químicas e estruturais.

Novas estratégias têm sido investigadas com o objetivo de tornar estes complexos mais eficientes. Por exemplo, complexos de Pt⁴⁺ vêm sendo ancorados a sistemas de entrega controlada de fármacos, como SWNT ou Au-NP, e a biomoléculas que interagem especificamente com células tumorais, como receptores, facilitando a ação destes complexos. Mais recentemente, compostos de Pt⁴⁺ vêm sendo projetados também para uso em terapia fotodinâmica. Estas estratégias inovadoras empregadas no planejamento dos fármacos de platina evidenciam o dinamismo da pesquisa nesta área.

6. Material Suplementar: sítio com atualizações sobre complexos de platina

No sítio “Platinum drugs net” é possível se informar sobre os trabalhos publicados na área de complexos de platina, desde 09/2009, sobre os fármacos de platina e as drogas em testes clínicos. O sítio é atualizado constantemente (<http://spider.science.strath.ac.uk/platinum/>).

Agradecimentos

Os autores agradecem às agências de fomento CAPES (bolsa de doutorado), FAPERJ-PRONEX (E-26/171.512.2010) e CNPq pelo apoio financeiro.

Referências Bibliográficas

- Moody, L.; Holder, A. A. *Annu. Rep. Prog. Chem., Sect. A* **2009**, *105*, 505. [CrossRef]
- Jones, C. J.; Thornback, J. R. *Medicinal Applications of Coordination Chemistry*, 1a ed., RSC: Cambridge, 2007.
- Neves, A. P.; Vargas, M. D. *Rev. Virtual Quim.* **2011**, *3*, 196. [Link]
- Rosenberg, B.; Van Camp, L.; Trosko, V. H. *Nature* **1969**, *222*, 385. [CrossRef] [PubMed]
- Wong, E.; Giandomenico, C. M. *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 2451. [CrossRef] [PubMed]
- Hambley, T. W. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **2001**, 2711. [CrossRef]
- Reithofer, M.; Galanski, M.; Roller, A.; Keppler, B. K. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2006**, 2612. [CrossRef]
- a) Sítio do *Food and drugs administration*. Disponível em: <www.fda.gov>. Acesso em: 29 fevereiro 2012; b) Sítio da Wikipédia – Cisplatina. Disponível em: <<http://pt.wikipedia.org/wiki/Cisplatina>>. Acesso em: 29 fevereiro 2012; c) Sítio da Wikipédia – Alfred Werner. Disponível em: <http://pt.wikipedia.org/wiki/Alfred_Werner>. Acesso em: 29 fevereiro 2012; d) Sítio do Ciberia. Disponível em: <<http://ciberia.aeiou.pt/gen.pl?p=stories&op=view&fkey=id.stories/2740>>. Acesso em: 29 fevereiro 2012.
- Rosenberg, B.; Van Camp, L.; Krigas, T. *Nature* **1965**, *205*, 698. [CrossRef] [PubMed]
- Wheate, N. J.; Walker, S.; Craig, G. E.; Oun, R. *Dalton Trans.* **2010**, *39*, 8113. [CrossRef] [PubMed]
- Hambley, T. W.; Battle, A. R.; Deacon, G. B.; Lawrenz, E. T.; Fallon, G. D.; Gatehouse, B. M.; Webster, L. K.; Rainone, S. J. *Inorg. Biochem.* **1999**, *77*, 3. [CrossRef]
- Choy, H.; Park, C.; Yao, M. *Clin. Cancer Res.* **2008**, *14*, 1633. [CrossRef] [PubMed]
- a) Hall, M. D.; Hambley, T. W. *Coord. Chem. Rev.* **2002**, *232*, 49; [CrossRef] b) Sternberg, C. N.; Whelan, P.; Hetherington, J.; Paluchowska B.; Slee, P. H.; Veremans, K. *Oncology* **2005**, *68*, 2. [CrossRef]
- Harper, B. W.; Krause-Heuer, A. M.; Grant, M. P.; Manohar, M.; Garbutcheon-Singh, K. B.; Aldrich-Wright, J. R. *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 7064. [CrossRef] [PubMed]

- ¹⁵ Huheey, J. E.; Keiter, E. A.; Keiter, R. L. *Inorganic Chemistry: Principles of Structure and Reactivity*, 4^a ed., HarperCollins College Publishers: New York, 1993.
- ¹⁶ Ellis, L. T.; Er, H. M.; Hambley, T. W. *Aust. J. Chem.* **1995**, *48*, 793. [[CrossRef](#)]
- ¹⁷ Bustamante, F. L. S.; Souza, E. T.; Lanznaster, M.; Scarpellini, M. *Rev. Virtual Quim.* **2009**, *1*, 138. [[Link](#)]
- ¹⁸ Fuertes, M. A.; Alonso, C.; Pérez, J. M. *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 645. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁹ Foltinová, V.; Sindlerová, L. S.; Horváth, V.; Sova, P.; Hofmanová, J.; Janisch, R.; Kozubík, A. *Scripta Medica*, **2008**, *81*, 105. [[Link](#)]
- ²⁰ a) Rose, W. C.; Crosswell, A. R.; Schurig, J. E.; Casazza, A. M. *Cancer Chemother. Pharmacol.* **1993**, *32*, 197; [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] b) Giandomenico, C. M.; Abrams, M. J.; Murrer, B. A.; Vollano, J. F.; Rheinheimer, M. I.; Wyer, S. B.; Bossard, G. E.; Higgs III, J. D. *Inorg. Chem.* **1995**, *34*, 1015. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²¹ Perez, J. M.; Camazón, M.; Alvarez-Valdes, A.; Quiroga, A. G.; Kelland, L. R.; Alonso, C.; Navarro-Ranninger, M. C. *Chem. Biol. Interact.* **1999**, *117*, 99. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²² Song, R.; Park, S. Y.; Kim, Y.-S.; Kim, Y.; Kim, S. -J.; Ahn, B. T.; Sohn, Y. S. *J. Inorg. Biochem.* **2003**, *96*, 339. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²³ Kaludjevic, G. N.; Miljkovic, D.; Momcilovic, M.; Djinic, V. M.; Stojkovic, M. M.; Sabo, T. J.; Trajkovic, V. *Int. J. Cancer* **2005**, *116*, 479. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²⁴ Kelland, L. R.; Murrer, B. A.; Abel, G.; Giandomenico, C. M.; Mistry, P.; Harrap, K. R. *Cancer Res.* **1992**, *52*, 822. [[PubMed](#)] [[Link](#)]
- ²⁵ Chaney, S. G.; Wyrick, S.; Till, G. K. *Cancer Res.* **1990**, *50*, 4539 [[PubMed](#)] [[Link](#)]
- ²⁶ a) van der Veer, J. P.; Peters, A. R.; Reedijk, J. J. *Inorg. Biochem.* **1986**, *26*, 137; [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] b) Kido, Y.; Khokhar, A. R.; Siddik, A. H. *Biochem. Pharmacol.* **1994**, *47*, 1635. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²⁷ Gonzalez, V. M.; Fuertes, M. A.; Alonso, C.; Perez, J. M. *Mol. Pharmacol.* **2001**, *59*, 657. [[PubMed](#)] [[Link](#)]
- ²⁸ Hall, M. D.; Amjadi, S.; Zhang, M.; Beale, P. J.; Hambley, T. W. *J. Inorg. Biochem.* **2004**, *98*, 1614. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²⁹ Hall, M. D.; Mellor, H. R.; Callaghan, R.; Hambley, T. W. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 3403. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³⁰ Raynaud, F. I.; Mistry, P.; Donaghue, A.; Poon, G. K.; Kelland, L. R.; Bernard, C. F. J.; Murrer, B. A.; Harrap, K. R. *Cancer Chemother. Pharmacol.* **1996**, *38*, 155. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³¹ Nemirovski, A.; Vinograd, I.; Takrouri, K; Mijovilovich, A.; Rompel, A.; Gibson, D. *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 1842. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³² Reithofer, M. R.; Bytzek, A. K.; Valiahdi, S. M.; Kowol, C. R.; Groessl, M; Hartinger, C. G.; Jakupec, M. A.; Galanski, M.; Keppler, B. K. *J. Inorg. Biochem.* **2011**, *105*, 46. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³³ Choi, S.; Filotto, C.; Bisanzo, M.; Delaney, S.; Lagasee, D.; Whitworth, J. L.; Jusko, A.; Li, C.; Wood, N. A.; Willingham, J.; Schenker, A.; Spaulding, K. *Inorg. Chem.* **1998**, *37*, 2500. [[CrossRef](#)]
- ³⁴ Platts, J.; Ermondi, G.; Caron, G.; Ravera, M.; Gabano, E.; Gaviglio, L.; Pelosi, G.; Osella, D. *J Biol. Inorg. Chem.* **2011**, *16*, 361. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³⁵ Weaver, E. L.; Bose, R. N. *J. Inorg. Biochem.* **2003**, *95*, 231. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³⁶ Basolo, F.; Wilks, P. H.; Pearson, R. G.; Wilkins, R. G. *J. Inorg. Nucl. Chem.* **1958**, *6*, 161. [[CrossRef](#)]
- ³⁷ Choi, S.; Vastag, L.; Leung, C. H.; Beard, A. M.; Knowles, D. E.; Larrabee, J. A. *Inorg. Chem.* **2006**, *45*, 10108. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³⁸ Nakai, T.; Ando, M.; Okamoto, Y.; Ueda, K.; Kojima, N. *J. Inorg. Biochem.* **2011**, *105*, 1. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³⁹ Choi, S.; Cooley, R. B.; Hakemian, A. S.; Larrabee, Y. C.; Bunt, R. C.; Maupaus, S. D.; Muller, J. G.; Burrows, C. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 591. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴⁰ Choi, S.; Cooley, R. B.; Voutchkova, A.; Leung, C. H.; Vastag, L.; Knowles, D. E. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 1773. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴¹ Choi, S.; Personick, M. L.; Bogart, J. A.; Ryu, DaW.; Redman, R. M.; Laryea-Walker, E. *Dalton Trans.* **2011**, *40*, 2888. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴² Choi, S.; Vastag, L.; Larrabee, Y. C.; Personick, M. L.; Schaberg, K. B.; Fowler, B. J.; Sandwick, R. K.; Rawji, G. *Inorg. Chem.* **2008**, *47*, 1352. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴³ Barnes, K. R.; Kutikov, A.; Lippard, S. *J. Chem. Biol.* **2004**, *11*, 557. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴⁴ Ang, W. H.; Khalaila, I.; Allardyce, C. S.; Juillerat-Jeanneret, L.; Dyson, P. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 1382. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴⁵ Parker, L. J.; Italiano, L. C.; Morton, C. J.; Hancock, N. C.; Ascher, D. B.; Aitken, J. B.; Harris, H. H.;

- Campomanes, P.; Rothlisberger, U.; de Luca, A.; Lo Bello, M.; Ang, W. H. Dyson, P. J.; Parker, M. W. *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 7806. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴⁶ Feazell, R. P.; Nakayama-Ratchford, N.; Dai, H.; Lippard, S. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 8438. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴⁷ Wang, D.; Lippard, S. J. *Nat. Rev. Drug Discov.*, **2005**, *4*, 307. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴⁸ a) Nakayama-Ratchford, N.; Bangsaruntip, S.; Sun, X.; Welsher, K.; Dai, H. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 2448; [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] b) Liu, Z.; Cai, W.; He, L.; Nakayama, N.; Chen, K.; Sun, X.; Chen, X.; Dai, H. *Nat. Nano* **2007**, *2*, 47. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴⁹ Dhar, S.; Liu, Z.; Thomale, J.; Dai, H.; Lippard, S. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 11467. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵⁰ Parker, N.; Turk, M. J.; Westrick, E.; Lewis, J. D.; Low, P. S.; Leamon, C. P. *Anal. Biochem.* **2005**, *338*, 284. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵¹ Alexis, F.; Pridgen, E.; Molnar, L. K.; Farokhzad, O. C. *Mol. Pharm.* **2008**, *5*, 505. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵² Giljohann, D. A.; Seferos, D. S.; Patel, P. C.; Millstone, J. E.; Rosi, N. L.; Mirkin, C. A. *Nano Lett.* **2007**, *7*, 3818. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵³ Dhar, S.; Daniel, W. L.; Giljohann, D. A.; Mirkin, C. A.; Lippard, S. J.; *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 14652. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵⁴ a) Brown, S. B.; Brown, E. A.; Walker, I. *Lancet Oncol.* **2004**, *5*, 497; [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] b) Ibbotson, S. H.; Moseley, H.; Brancalion, L.; Padgett, M.; O'Dwyer, M.; Woods, J. A.; Lesar, A.; Goodman, C.; Ferguson, J. *Photodiagn. Photodyn. Ther.* **2004**, *1*, 211. [[CrossRef](#)]
- ⁵⁵ Sharman, W. M.; Allen, C. M.; van Lier, J. E. *Drug Discov. Today* **1999**, *4*, 507. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵⁶ Harris, A. L. *Nat. Rev. Cancer* **2002**, *2*, 38. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵⁷ Farrer, N. J.; Sadler, P. J. *Aust. J. Chem.* **2008**, *61*, 669. [[CrossRef](#)]
- ⁵⁸ Farrer, N. J.; Woods, J. A.; Munk, V. P.; Mackay, F. S.; Sadler, P. J. *Chem. Res. Toxicol.* **2010**, *23*, 413. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵⁹ Ronconi, L.; Sadler, P. J. *Dalton Trans.* **2011**, *40*, 262. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁶⁰ Mackay, F. S.; Woods, J. A.; Moseley, H.; Ferguson, J.; Dawson, A.; Parsons, S. Sadler, P. J. *Chem Eur. J.* **2006**, *12*, 3155. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁶¹ Farrer, N. J.; Woods, J. A.; Salassa, L.; Zhao, Y.; Robinson, K. S.; Clarkson, G.; Mackay, F. S.; Sadler, P. J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 8905. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁶² Berners-Price, S. J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 804. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]