

COMPOSTOS DE PLATINA EM QUIMIOTERAPIA DO CÂNCER

Ana Paula Soares Fontes, Sérgio Gama de Almeida

Núcleo Multifuncional de Pesquisas Químicas - NUPEQ - Departamento de Química - Instituto de Ciências Exatas - Universidade Federal de Juiz de Fora - Juiz de Fora - MG

Letícia de Andrade Nader

Conjunto Hospitalar - Sorocaba - SP

Recebido em 20/6/96 aceito em 8/11/96

PLATINUM COMPLEXES IN CANCER CHEMOTHERAPY. The vast majority of clinically used antitumor drugs are either synthetic or natural product based organic compounds. In this review we describe different aspects, such as structure-activity relationships, mechanism of action, clinical uses and possible future prospects, of the platinum antitumor complexes, a distinct class of antitumor agents.

Keywords: platinum complexes; structure-activity relationships of platinum-amine complexes; antitumor agents.

1. INTRODUÇÃO

A utilização de quimioterapia no tratamento do câncer tem sido objeto de estudo nas últimas três ou quatro décadas. Apesar disto, o envolvimento de compostos inorgânicos, principalmente aqueles contendo metais, foi muito limitado até a demonstração da atividade anticancerígena de complexos contendo platina por Rosenberg e colaboradores no final dos anos 60^{1,2}. Antes destas publicações, a maior parte das pesquisas estava centrada no possível potencial carcinogênico destes compostos e não em qualquer propriedade anticancerígena³.

O sucesso na clínica do *cis*-[diamindicloroplatina(II)], *cis*-[PtCl₂(NH₃)₂] (1), figura 1, denominado Cisplatina, inicialmente em pacientes terminais⁴ e, posteriormente, em tumores localizados, como nos casos de câncer testicular⁵ e ovariano⁶, bem como o desenvolvimento de procedimentos clínicos que diminuem a toxicidade renal^{7,8}, têm revertido a resistência inicial e renovado o interesse na química deste composto e outros estreitamente relacionados^{9,10}.

Apesar do intenso trabalho desenvolvido ao longo destes anos¹¹, somente alguns poucos análogos têm avançado até os testes clínicos e, além da Cisplatina, apenas mais um, {Pt[C₄H₆(CO₂)₂][NH₃]₂}, [Diamin(1,1-ciclobutanodicarboxilato)platina(II)] (2), figura 1, denominado Carboplatina¹², recebeu aprovação para comercialização.

Por outro lado, trabalhos de determinação estrutural dos adutos formados entre complexos de platina e oligonucleotídeos¹³ têm aumentado o entendimento do seu mecanismo de ação e aberto novos caminhos de pesquisa na área. Assim, o empirismo que predominou em um primeiro momento, vem sendo paulatinamente substituído por sínteses direcionadas para compostos de platina contendo ligantes que, pelo menos teoricamente, apresentem características que aumentem sua afinidade pelo DNA que, como será discutido na seqüência, é o principal sítio de interação destes complexos no meio biológico.

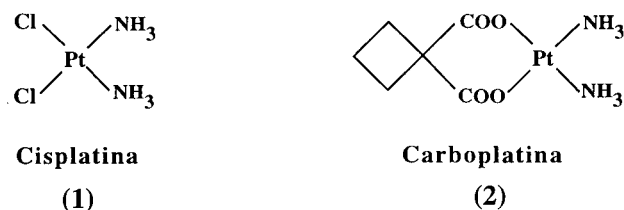


Figura 1. Estrutura da cisplatina e carboplatina

Vários aspectos relacionados aos complexos de platina que apresentam atividade anticancerígena têm sido abordados por artigos de revisão. Dentre estes, podemos citar revisões clássicas como as de Cleare¹⁴, Sherman e colaboradores¹⁵, Van der Veer e colaboradores^{13a} e Umaphy¹⁶. O artigo de Bruhn e colaboradores¹⁷ trata das interações dos complexos de platina com o DNA e o de Sundquist e colaboradores¹⁸ também enfatiza estes aspectos. A revista Química Nova já publicou artigos relacionados ao tema: em 1989 um artigo de divulgação de autoria de Dias¹⁹ e em 1992 a revista publicou um artigo de revisão de Najjar²⁰ que abordou não apenas complexos de platina, mas deu ênfase especial aos complexos de ródio e rutênio que também apresentam atividade anticancerígena.

2. RELAÇÃO ENTRE ESTRUTURA E ATIVIDADE

As avaliações iniciais mostraram que, em uma mesma série, os isômeros *cis* eram ativos, enquanto os correspondentes isômeros *trans* eram inativos^{21,22}. Assim, a pesquisa concentrou-se em compostos com configuração *cis*.

Em função da síntese de compostos com estruturas análogas à da Cisplatina e sua utilização em testes biológicos, algumas características gerais entre estrutura e atividade têm sido delineadas desde as primeiras revisões¹⁴ e são empregadas

Abreviaturas usadas no texto: Bipy: 2,2'-Bipiridina; *cis*-DDP: *cis*-[diamindicloroplatina(II)]; Dach: 1,2-diaminocicloexano; Damch: 1,1-diaminometilcicloexano; Dien: dietilenotriamina; DMSO: dimetilsulfóxido; DNA: ácido desoxirribonucléico; d(ApGpCpT): representação de oligonucleotídeos onde d indica que o açúcar é o 2'-desoxi-D-ribose, A=adenina, G=guanina, C=citosina, T=timina e p = fosfato; 5'-GMP: 5'-monofosfato de guanosina; en: etilenodiamina; HET: hidroxietanotiol; i-PrNH₂: isopropilamina; MePhSO: metilfenilsulfóxido; py: piridina; RNA: ácido ribonucléico; t-buNH₂: terbutilamina; terpy: 2,2':6,2''-terpiridina; *trans*-DDP: *trans*-[diamindicloroplatina(II)].

como guia na grande maioria dos trabalhos sintéticos. Estas características são resumidas a seguir:

- Os complexos devem ter uma configuração *cis*, ou seja, apresentar dois grupos abandonadores com configuração relativa *cis*, já que os correspondentes isômeros *trans* são considerados inativos;
- Os complexos devem ser eletricamente neutros, embora a forma ativa possa ser carregada, após a troca de ligantes no meio biológico;
- Os ligantes que não são trocados devem ser aminas relativamente inertes, preferencialmente com um átomo de hidrogênio no grupo diretamente ligado à platina, ou o NH₃;
- Os grupos abandonadores devem apresentar uma labilidade moderada. Apesar disto, ligantes bidentados relativamente inertes, como os dicarboxilatos, também dão origem a compostos ativos.

Uma visão geral do desenvolvimento destas relações entre estrutura e atividade pode ser acompanhada através de revisões editadas por Prestayko e colaboradores (1980)²³, Hacker e colaboradores (1984)²⁴, Nicolini (1988)²⁵ e Howell (1991)¹⁰.

Uma leitura das quatro características gerais descritas mostra que, a exceção da primeira, as demais são bastante vagas. Os itens seguintes contêm uma breve análise destes tópicos. Entretanto, devemos ressaltar que estas relações são de natureza empírica, já que foram baseadas na atividade antitumoral apresentada pelos complexos sintetizados. Ao longo dos anos, quando compostos estruturalmente diferentes foram sendo sintetizados e testados, passamos a ter conhecimento de várias exceções.

2.1. A configuração *cis*

Este primeiro requisito para atividade anticancerígena tem sido largamente utilizado para o direcionamento das sínteses. Atualmente porém, já se encontram na literatura trabalhos relatando complexos *trans* com atividade. Exemplos incluem compostos contendo ligantes com estrutura plana como a piridina^{26,27} e derivados de iminas²⁸. Entretanto, a grande maioria dos complexos de platina sintetizados e submetidos a testes biológicos apresentam configuração *cis*.

2.2. O requerimento para a neutralidade

Como inicialmente apenas os compostos neutros mostraram alguma atividade²⁹ e a ênfase era dada principalmente a aspectos estruturais, a quase totalidade dos complexos testados na década de 70 exibiu esta propriedade. Este detalhe pode ser exemplificado por um artigo publicado em 1980, em que Bradner e colaboradores³⁰ descreveram a atividade de 74 análogos da Cisplatina, dos quais 68 eram compostos neutros.

A demonstração de que o sal de potássio do ânion [PtCl₃(NH₃)]⁻³¹ e, mais recentemente, que complexos catiônicos como [PtCl(A)₂(Am)]⁺, (A = NH₃ ou i-PrNH₂; A₂ = en ou dach; Am = piridinas substituídas, pirimidinas, purinas ou anilina)³² e [PtCl(R'R''SO)(diamina)]⁺, (diamina = en, dach e damch; R'R''SO = DMSO, MePhSO, etc.)³³ apresentam atividade, implica claramente na possibilidade de que sais complexos possam vir a ser utilizados no futuro.

2.3. O grupo neutro

O grupo neutro ou não abandonador deve ser o NH₃ ou um grupo amina relativamente inerte. Em praticamente todos os trabalhos relacionados com a interação de complexos potencialmente ativos com oligonucleotídeos, foi encontrado que o grupo amina estava envolvido em pelo menos uma ligação de hidrogênio. Isto é, a atividade geralmente decresce na série NH₃ > RNH₂ > R₂NH > R₃N^{13a}. Dentre as aminas utilizadas estão incluídas

aquelas de cadeias normais e ramificadas, as alicíclicas, as heterocíclicas, os diaminoalcanos, o diaminocicloexano, as diaminas aromáticas, as aminopiridinas e análogos³⁴.

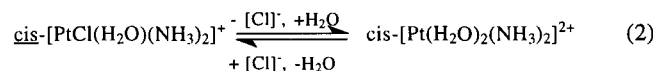
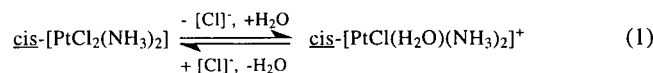
A literatura tem apresentado exemplos de complexos ativos que não contêm o grupo NH. Dentre estes, Bloemink e colaboradores³⁵ recentemente publicaram a síntese do complexo (bis(N-metilimidazol-2-il)carbinol)dicloroplatina(II) e citam também complexos de platina com éter de coroa derivados de bipyridil³⁶ e complexos do tipo organoamidas com ligantes piridina³⁷.

2.4. O grupo abandonador

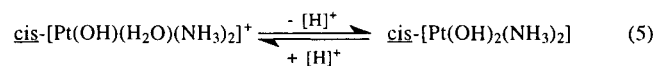
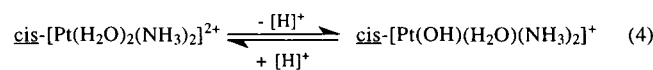
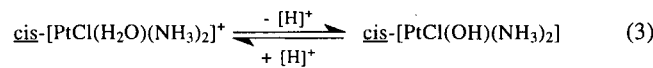
Como grupo abandonador além do cloreto, que é o mais utilizado, a faixa de ligantes é bastante ampla, indo daqueles relativamente inertes, como os dicarboxilatos, até aqueles bastante lábeis como sulfato e nitrato.

2.4.1. Solvólise da cisplatina

Diferentes trabalhos têm mostrado que a Cisplatina sofre hidrólise³⁸, como representado nas equações 1 e 2.



Em adição a estes, três outros equilíbrios ácido-base são possíveis, equações 3 a 5, levando então a seis espécies, incluindo a Cisplatina e seus produtos de hidrólise.



O conhecimento de que a concentração de cloreto no plasma é aproximadamente igual a 103 mM, comparada com 4 mM no citoplasma e, utilizando dados de velocidade de hidrólise e constantes de ionização, Martin³⁹ calculou a proporção relativa das espécies presentes no pH do meio biológico, i.e. 7,4. Os dados indicaram que enquanto no plasma a concentração da espécie *cis*-[PtCl₂(NH₃)₂] seria aproximadamente 26 vezes maior do que no citoplasma, o inverso é verdadeiro para a espécie *cis*-[Pt(H₂O)₂(NH₃)₂]²⁺.

Mais recentemente, utilizando o nitrato como contra íon, Appleton e colaboradores⁴⁰ estabeleceram que a 37°C, as espécies *cis*-[PtCl(H₂O)(NH₃)₂]⁺ e *cis*-[PtCl(OH)(NH₃)₂] são encontradas no citoplasma em quantidades aproximadamente iguais e que a espécie que existe em maior proporção corresponde a *cis*-[Pt(OH)(H₂O)(NH₃)₂]⁺. Estes dados indicam que para o caso da Cisplatina, as espécies reativas no citoplasma devem ser uma combinação daquelas contendo os ligantes aquo e hidroxio.

Modificações envolvendo o grupo abandonador, por exemplo, substituição do cloreto por malonato ou 1,1-ciclobutano-dicarboxilato, originam espécies que sofrem hidrólise muito mais lentamente, o que tem feito com que outros processos de ativação sejam considerados⁴¹.

O fato de possuir as características estruturais citadas não apresenta nenhuma garantia de atividade biológica para o composto, mas análogos estruturais dos compostos ativos tendem também a apresentar alguma atividade. Em função disto, a maioria dos compostos sintetizados e testados são, de alguma maneira, variantes de *cis*-[Pt(amina)₂X₂] ou análogos de platina(IV).

Em resumo, apesar destas relações poderem ser usadas como uma diretriz para o trabalho sintético, os dados acumulados sobre o mecanismo de ação dos complexos de platina ou, em outras palavras, a sua interação no meio biológico, têm ampliado o leque de possibilidades, em função de um melhor entendimento dos possíveis adutos formados⁴². Espera-se que após a realização de estudos detalhados com compostos que apresentem novos tipos estruturais aliada ao conhecimento adquirido sobre a maneira com que os complexos de platina interagem com o DNA, as regras originais de estrutura-atividade possam ser revistas e/ou ampliadas enfatizando menos o empirismo.

3. MECANISMO DE AÇÃO

Atualmente, é amplamente reconhecido que os compostos de platina interagem com o DNA, configurando-se uma lesão a nível molecular^{43,44}. As principais evidências para esta interação incluem os seguintes argumentos⁴⁵:

- Indução do crescimento de filamentos em bactérias;
- Indução de lise em bactérias lisogênicas;
- Inibição preferencial da síntese de DNA em relação a síntese de RNA e proteínas em culturas de células;
- Mutagênese.

O fato da Cisplatina atuar ao nível do DNA, foi corroborado pela observação de que células Eucarióticas e Procarióticas deficientes em enzimas de reparo, são frequentemente mais sensíveis a Cisplatina do que outras linhagens^{46,47}.

Desde que esta lesão seja responsável pela citotoxicidade da Cisplatina e de análogos, é importante identificar os possíveis sítios de ligação existentes no DNA e os principais modos de ligação da platina com estes biopolímeros.

3.1. Possíveis sítios de ligação da platina no DNA

O DNA é uma macromolécula composta por blocos repetitivos, cada um deles constituído de uma base nitrogenada, um grupo fosfato e uma molécula do açúcar 2'-desoxi-D-ribose. As bases nitrogenadas são usualmente as bases púricas guanina (G) e adenina (A) e as pirimídicas citosina (C) e timina (T), embora formas metiladas de adenina e timina possam ser incorporadas eventualmente. Ligações de hidrogênio entre bases complementares de fitas opostas [G-C e A-T] mantêm a estrutura de dupla hélice apresentada pelo DNA. Um tetranucleotídeo, com as quatro bases nitrogenadas mais comuns, é apresentado na figura 2.

Teoricamente, a interação da platina com o DNA pode ocorrer em qualquer posição onde exista um par de elétrons livres. Contudo, ligações com os átomos de oxigênio do açúcar têm raramente sido observadas em nucleotídeos e nucleosídeos, e a interação com os oxigênios dos grupos fosfato, que foi apontada⁴⁸, parece só ocorrer em mononucleotídeos⁴⁹.

Os átomos de nitrogênio (N1) das purinas e (N3) das pirimidinas, bem como aqueles dos grupos exocíclicos guanina-(O6) e (N2); citosina-(O2) e (N4); timina-(O4); adenina-(N6) estão parcialmente bloqueados para formação de ligações com a platina, por estarem envolvidos em ligações de hidrogênio intermoleculares, que mantêm a estrutura de dupla hélice do DNA. Os átomos de nitrogênio (N9) das purinas e (N1) das pirimidinas, obviamente, não estão disponíveis por estarem formando ligações glicosídicas com o açúcar.

Assim, as principais possibilidades residem na posição (N7) das purinas na abertura maior e (N3) na abertura menor do DNA.

Apesar desta aparente simplicidade, o DNA é o mais complexo ligante polidentado estudado e interações, que à primeira vista apresentam-se como improváveis, podem na realidade ocorrer como, por exemplo, durante o processo de replicação e transcrição do DNA, onde as ligações de hidrogênio entre

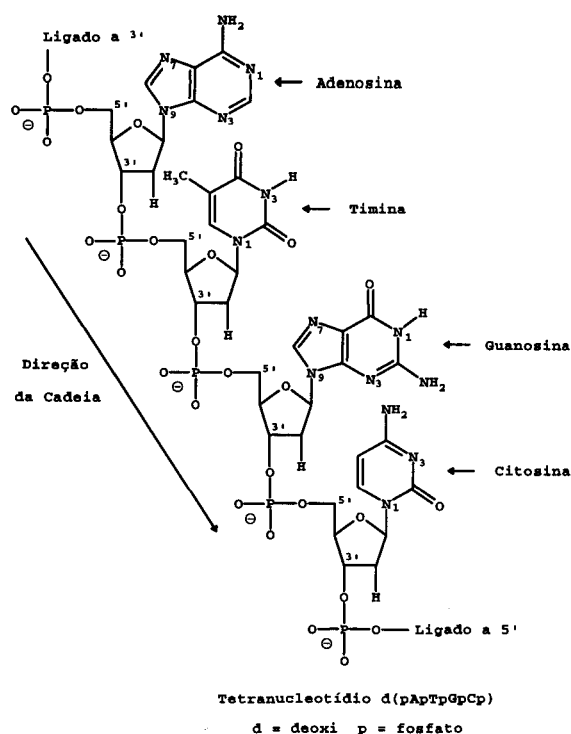


Figura 2. Tetranucleotídeo com as 4 bases mais comuns.

diferentes fitas do DNA são momentaneamente desfeitas⁵⁰, permitindo a interação em posições bloqueadas da dupla hélice.

3.2. Adutos formados entre a platina e o DNA

Os adutos formados entre metais da 1ª série de transição com nucleotídeos e polinucleotídeos não serão discutidos aqui, mas estes dados podem ser encontrados em revisões feitas por Martin^{51,52}.

Os principais adutos formados entre a Cisplatina e o DNA são dos seguintes tipos:

- monofuncionais: cada átomo de platina faz uma ligação com o DNA.
- bifuncionais: cada platina se liga em duas posições ao DNA. Estas ligações podem ocorrer na mesma fita do DNA (intrafita) ou em fitas diferentes (interfitas). Pode ainda ocorrer um outro tipo de ligação bifuncional, chamada de intermolecular, na qual cada platina se liga ao DNA em uma posição e a segunda ligação seria feita com outras biomoléculas como proteínas e aminoácidos.

Na análise destes tipos estruturais deve-se levar em conta que, embora o estudo da interação entre íons metálicos e bases nitrogenadas livres, mononucleotídeos e mononucleosídeos incorporem dados importantes, a extrapolação destes para polinucleotídeos deve ser feita com cautela.

As estruturas destes adutos têm sido identificadas pela utilização de uma combinação de métodos enzimáticos, químicos e imunológicos⁵³.

A Ressonância Magnética Nuclear é uma técnica que tem sido cada vez mais utilizada para investigar a interação de complexos de platina com mono e polinucleotídeos.

A ligação da platina com o mononucleotídeo 5'-GMP pode ser monitorada pelo deslocamento do sinal de ressonância do próton H8 do 5'-GMP por RMN de ¹H⁵⁴.

RMN de ³¹P fornece mais informações. Um bom exemplo é discutido no artigo de Reily e colaboradores⁵⁵ que estudaram a interação da Cisplatina e de outros complexos de platina com

polinucleotídeos e mostraram evidência para a formação de um aduto bifuncional no qual a platina liga-se aos átomos de nitrogênio (N7, N7) das guaninas.

A utilização de RMN de ^{195}Pt para estudar a ligação de *cis*- e *trans*-DDP à fragmentos do DNA foi relatada pela primeira vez por Bancroft e colaboradores⁵⁶. Foi possível observar a formação de adutos monofuncionais e bifuncionais. Devido à grande faixa de deslocamentos químicos em RMN de ^{195}Pt , pode-se acompanhar estas etapas individualmente.

Um trabalho interessante foi realizado por Iwamoto e colaboradores⁵⁷ que investigaram a interação de complexos de platina com oligonucleotídeos através de RMN de ^1H e ^{31}P , usando técnicas como 2D-NOESY. Foi detectada a formação de um aduto com características estruturais peculiares, no qual as guaninas fazem ligações com a platina pelos átomos de nitrogênio N7. Este aduto, no qual as fitas do DNA redobram-se (descrito como "hairpin" ou grampo de cabelo em português), é interessante do ponto de vista estrutural e espectroscópico, além de desempenhar um papel provavelmente importante na atividade anticancerígena do complexo de platina. Os dados de RMN foram também utilizados para fazer cálculos relativos a distâncias geométricas no aduto. Os autores sugerem que a estrutura peculiar encontrada origina-se de demandas espaciais que ocorrem quando a platina liga-se na abertura maior do DNA.

A seguir descrevemos com maiores detalhes os principais tipos de interação possíveis de ocorrer entre o complexo de platina e o DNA.

3.2.1. Ligação monofuncional a uma base (guanosina)

Já que ambos isômeros, *cis*-DDP e *trans*-DDP, são capazes de formar adutos monofuncionais e que íons complexos, como o $[\text{PtCl}(\text{dien})]^+$, são inativos como anticancerígenos e ineficientes para bloquear a replicação do DNA *in vitro*⁵⁸, estes adutos parecem não ser responsáveis pela atividade biológica, embora possam ser formados em uma primeira etapa e depois se rearranjarem para adutos bifuncionais.

3.2.2 Ligação cruzada com guanosina e uma proteína

Este tipo de ligação representa apenas uma pequena fração do total de adutos formados⁵⁹, sendo igualmente possível para ambos isômeros, *cis*-DDP e *trans*-DDP.

3.2.3. Ligação com duas bases de uma mesma fita

A ligação preferencial do *cis*-DDP à guanosina tem sido demonstrada desde a década de 70⁶⁰, seguindo-se sua reação com o DNA através de métodos espectrométricos.

Utilizando o paládio, que atinge o equilíbrio mais rapidamente, na forma do íon complexo $[\text{Pd}(\text{dien})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ que permite a substituição de apenas um ligante, Scheller e colaboradores⁶¹ encontraram que a $\text{pH} = 7,0$, a ordem de preferência para ligação em nucleosídeos, é $\text{G}(\text{N}7) > \text{G}(\text{N}1) > \text{U}(\text{N}3) > \text{T}(\text{N}3) > \text{C}(\text{N}3) > \text{A}(\text{N}1) > \text{A}(\text{N}7)$, o que novamente mostra a maior afinidade da guanina por metais deste grupo em comparação com as demais bases.

Assim, pelo menos três interações deste tipo têm sido detectadas e em todas elas um resíduo de guanosina está envolvido na ligação. A utilização de polinucleotídeos contendo as bases nitrogenadas encontradas com mais frequência no DNA, $\text{d}(\text{ApGpGpCpCpT})$ ⁶² e $\text{d}(\text{TpGpGpCpCpA})$ ⁶³ resultou na ligação da platina exclusivamente ao átomo de nitrogênio (N7) de ambos os resíduos de guanosina. Estes resultados servem como modelo de ligação bifuncional de Cisplatina a duas guanosinas adjacentes de uma mesma fita de DNA.

No estudo da interação de Cisplatina com o trinucleotídeo $\text{d}(\text{GpApG})$ ⁶⁴, dois produtos foram obtidos e caracterizados. Em um dos produtos, obtido com um rendimento de 80%, a platina

encontra-se ligada aos átomos de nitrogênio (N7) de ambos os resíduos de guanosina, servindo como modelo de ligação bifuncional a duas guaninas de uma mesma fita de DNA, separadas por uma base não ligante. O outro produto, no qual o átomo de platina encontra-se ligado aos átomos de nitrogênio (N7) dos resíduos de adenosina e guanosina, formado com um rendimento de 20%, representa um modelo de ligação bifuncional a uma adenina e uma guanina da mesma fita de DNA.

Os dados obtidos até o momento indicam serem estes os principais tipos de interação da Cisplatina com o DNA.

3.2.4. Ligação com duas bases de fitas diferentes

Este tipo de interação, por representar apenas uma pequena porcentagem do total de adutos formados, tem sido considerado de pouca importância dentro do contexto geral. Tem sido demonstrado, porém, que esta ligação ocorre entre os átomos de nitrogênio (N7) de guaninas situadas em fitas opostas do DNA⁶⁵.

As evidências indicam, portanto, que inicialmente forma-se um aduto monofuncional, que posteriormente rearranja-se para adutos bifuncionais. Cerca de 90% dos adutos formados *in vitro* consistem de ligação cruzada entre bases vizinhas de uma mesma fita, guanina-guanina (65%) ou guanina-adenina (35%). Em alguns casos, estas ligações cruzadas podem ser separadas por uma base. Do total, aparentemente menos de 1% das interações são representadas por ligações cruzadas entre bases de fitas diferentes^{44,66}.

Embora os dados obtidos até o momento necessitem de um maior refinamento, parece claro que a principal interação para a Cisplatina e análogos é representada pela ligação cruzada na mesma fita guanina (N7) - guanina (N7), apesar de outras ligações serem possíveis.

3.3. Interação com outras biomoléculas

Embora saiba-se que a ligação covalente do complexo de platina com as nucleobases do DNA seja a principal responsável pela manifestação da atividade citotóxica, outras biomoléculas como proteínas e peptídeos podem também ligar-se a platina no meio biológico.

Os sítios de ligação das proteínas com os quais a platina interage mais comumente incluem as aminas terminais, os carboxilatos, o grupo imidazólico da histidina e principalmente o grupo tiólico da metionina⁶⁷. O grupo tiólico do tripeptídeo glutatona, que é abundante no meio intracelular, é também citado frequentemente como sítio de ligação da platina⁶⁸.

O conhecimento da afinidade da platina pelos ligantes que contêm enxofre tem sido explorado no sentido de utilização destes ligantes, inclusive da própria glutatona, em associação com o agente antitumoral visando-se a redução dos efeitos tóxicos⁶⁹.

Acredita-se que muitos dos efeitos tóxicos observados, principalmente a nefrotoxicidade, estejam relacionados com a ocorrência de ligação do complexo de platina com proteínas e peptídeos como a glutatona. A inativação da droga antes mesmo de alcançar o DNA é também atribuída a estas interações, já que quantidades significativas são eliminadas como espécies contendo proteínas ligadas^{70,71}.

Além disto, grandes quantidades de glutatona têm sido encontradas em células resistentes à Cisplatina. Embora não se conheça o exato mecanismo ao nível molecular, a glutatona desempenha um papel importante na resistência que as células adquirem a este agente antitumoral⁷². A metionina tem também sido relacionada com a resistência que as células adquirem à Cisplatina⁷³.

4. ALTERAÇÕES NO DNA

Paralelamente a questão dos sítios de ligação da platina ao DNA e a caracterização dos adutos formados, um outro aspecto

importante diz respeito aos efeitos estruturais destas interações na geometria e conformação das bases nitrogenadas e no DNA como um todo.

A ligação da platina com os átomos de nitrogênio endocíclicos das bases nitrogenadas causa alterações mínimas na estrutura do anel da base. Em relação a este fato, a influência da platina é menor que a de um próton⁵³, o que induz a idéia de que as alterações devem estar relacionadas à estrutura do DNA como um todo.

Os adutos formados levam a uma distorção na estrutura da hélice e tem sido notado que um aumento no número de grupos $cis-[Pt(NH_3)_2]^{2+}$ ligados desestabiliza a estrutura resultando em um decréscimo na sua temperatura de fusão⁷⁴. A interação do oligonucleotídeo d(GpApTpCpCpGpGpC) com $cis-[Pt(NH_3)_2]^{2+}$ desestabiliza a estrutura e como resultado a temperatura de fusão diminui de 55°C para 28°C⁷⁵.

Alterações na mobilidade do DNA medidas por eletroforese⁷⁶ indicam modificações na estrutura espiral. A progressiva redução observada no ângulo entre as bases consecutivas como função do acréscimo da quantidade de cis -DDP ligado, mostra que o principal modo de interação, ligação cruzada entre duas bases da mesma fita d(GpG), contribui para este fenômeno⁷⁷.

Outro aspecto, evidenciado pela resolução por difração de Raios-X⁷⁸ da estrutura do complexo $cis-[Pt(NH_3)_2[d(pGpG)]]$, relaciona-se ao grande ângulo diedro ($\approx 76^\circ - 78^\circ$) entre as duas bases, ($\approx 36^\circ$ no DNA), o que sugere uma substancial distorção. Estudos conformacionais do mesmo aduto em solução, através da utilização de RMN de ¹H, sugerem um ângulo menor⁷⁹ ($\approx 53^\circ$), porém, de qualquer modo, esta variação pode trazer distorção na estrutura.

Análise estrutural de modelos com fórmulas do tipo $[Pt(amina)_2(purina)_2]^{2+}$, mostrou que a formação de ligações de hidrogênio entre o grupo amina N-H e o átomo de oxigênio exocíclico (O6) das purinas ocorre frequentemente⁸⁰. Mais recentemente⁸¹, modelos utilizando os dinucleotídeos d[GpG] e d[ApG], indicam a existência de ligação de hidrogênio entre o grupo NH₃ e um oxigênio do grupo fosfato, além da supra citada com o oxigênio exocíclico. Este fato pode ser uma justificativa para o requerimento de átomos de hidrogênio no grupo amino diretamente ligado à platina.

Um outro detalhe está relacionado com a preservação do emparelhamento das bases no esquema de Watson-Crick. Qualquer troca nas propriedades ácido-base dos grupos envolvidos em ligações de hidrogênio, evidentemente irá exercer um efeito eletrônico na interação dos pares adenina-timina e guanina-citosina. A ligação de platina ao átomo de nitrogênio (N7) da guanina aumenta a acidez do próton em (N1) entre 1,5 e 2,0 unidades de pK⁸², o mesmo acontecendo com a interação com a adenina⁸³.

Qual dos adutos formados e que alteração ou alterações no DNA são responsáveis pela citotoxicidade do cis -DDP são ainda questões sem respostas definitivas. No entanto, o intenso trabalho nesta área tem dado suporte para a síntese de novos tipos estruturais e aumentado o entendimento do mecanismo de ação destes compostos.

5. ASPECTOS CLÍNICOS

A Cisplatina foi introduzida em testes clínicos no início da década de 70⁴ e os resultados demonstraram que essa droga era um dos mais eficazes agentes quimioterápicos disponíveis para o tratamento do câncer, principalmente os de testículo⁵ e ovário⁶. Nestas neoplasias o tratamento com a Cisplatina obteve boas respostas como agente terapêutico único ou como droga básica em vários regimes de poliquimioterapia, uma vez que possui efeito sinérgico com numerosos agentes como alquilantes, antibióticos e antimetabólitos^{84,85}.

O entusiasmo inicial causado pela descoberta de um novo agente quimioterápico foi, no entanto, arrefecido com a

observação de que a Cisplatina, como a maioria dos quimioterápicos, possui vários efeitos tóxicos importantes, destacando-se a toxicidade renal, que foi considerada dose limitante, a toxicidade gastrointestinal e a neurotoxicidade^{86,87}. Em função destes efeitos seu uso na época foi restringido, porém, em virtude de sua alta atividade citotóxica, os testes clínicos continuaram utilizando doses mais baixas (20 a 30mg/m²), visando o desenvolvimento de técnicas de administração que diminuíssem sua toxicidade sem interferir no efeito antineoplásico.

As manifestações de toxicidade renal, decorrentes da administração de doses baixas, são comumente brandas e reversíveis. Em contrapartida, o uso de altas doses e o tratamento com múltiplos ciclos da droga ocasionam disfunção renal mais severa e às vezes irreversível⁸⁸. O desenvolvimento de técnicas de administração que incluem uma pré e pós hidratação intensa do paciente, o uso associado de manitol e de diuréticos de alça e a diluição do medicamento em solução salina hipertônica⁸⁹ permitiram o emprego da Cisplatina em doses mais altas com menor incidência dos efeitos tóxicos renais, embora ainda seja necessária a constante observação da função renal.

Além disto, vários protetores químicos têm sido utilizados com o intuito de combater a nefrotoxicidade e, dentre eles, tiosulfato de sódio⁹⁰, (2-[(3-aminopropil)amino] etanol)⁹¹, dietilditiocarbamato⁹² e glutationa⁹³ têm apresentado resultados satisfatórios.

A toxicidade gastrointestinal manifesta-se através de náuseas e vômitos intensos tornando difícil o manejo terapêutico. Apesar desta manifestação se mostrar resistente aos esquemas antieméticos habituais, várias drogas têm sido usadas na tentativa de minimizá-la, tais como a dexametasona e a metoclopramida⁹⁴. Recentemente, foram introduzidos na prática clínica os antagonistas dos receptores 5-HT₃⁹⁵, como Ondansetrona e Granisetrona, com os quais tem sido conseguido um melhor controle deste efeito tóxico.

A neurotoxicidade manifesta-se principalmente através da neuropatia periférica, embora seja geralmente de pequena intensidade e raramente limita o uso da droga. A ototoxicidade apresenta-se como perda parcial da capacidade auditiva, principalmente em altas frequências⁹⁶ sendo que é irreversível e indica que o uso de Cisplatina deve ser interrompido.

Atualmente, as pesquisas têm sido direcionadas para o desenvolvimento de⁹⁷:

- (a) melhores técnicas de administração da droga, visando a diminuição da toxicidade sem interferir no efeito citotóxico;
- (b) melhor dose terapêutica para cada tipo de tumor;
- (c) melhores vias de administração;
- (d) associações terapêuticas sinérgicas.

6. PERSPECTIVAS

Apesar da maioria dos compostos sintetizados atualmente ainda seguir as relações entre estrutura e atividade, novas estratégias têm sido tentadas com resultados positivos¹⁰.

A intercalação entre pares de bases constitui um modo possível de interação de quimioterápicos com o DNA, e também afeta a sua estrutura. Este mecanismo é bem documentado e várias drogas utilizadas na clínica, como as antracilinas, atuam intercalando no DNA⁹⁸. A demonstração de que complexos de platina com ligantes planos, como o $[Pt(terpy)(HET)]$, podem intercalar com dinucleotídeos⁹⁹, levantou a possibilidade de se utilizar estes ligantes, com a finalidade de obter compostos que atuem por um mecanismo diferente, qual seja, formação de adutos e intercalação.

Assim, compostos com ligantes não abandonadores planos, como derivados da piridina^{26,27} e iminas²⁸, em configuração trans tem mostrado atividade comparável à Cisplatina.

No complexo trans- $[PtCl_2(py)_2]$ (3) (Figura 3), o plano

formado pelas duas moléculas de piridina permite a intercalação entre as bases do DNA. Ocorrendo intercalação, as ligações Pt-Cl perpendiculares ao plano formado pelos anéis dos ligantes piridina ficam orientadas corretamente para formação de ligação da platina com o DNA. No caso do complexo análogo de geometria *cis*, *cis*-[PtCl₂(py)₂], somente uma das piridinas pode intercalar de cada vez¹⁰⁰.

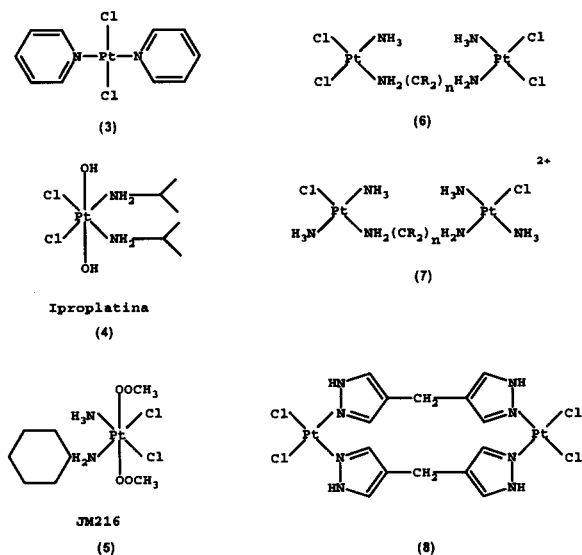


Figura 3. Novos tipos estruturais de complexos de platina.

O mecanismo de ação ainda não é claro. Acreditamos que a presença do ligante de estrutura plana pode aumentar a especificidade do complexo pelas seqüências de bases e que a formação de diferentes adutos com o DNA e mesmo reações com outras biomoléculas como a glutatona podem ser importantes para o mecanismo.

Outros tipos de "Compostos não Clássicos" que apresentam atividade, são representados por complexos aniônicos como o K[PtCl₃(t-buNH₂)]¹⁰¹, neutros como o [PtCl₂(bipy)]¹⁰² e catiônicos como [PtClA₂(Am)]⁺, onde A = NH₃ ou iPrNH₂ e Am = piridina ou outro ligante contendo nitrogênio heterocíclico³² e [PtCl(diam)(R'R''SO)]⁺, onde diam = diamina como 1,2-diaminociclohexano e R'R''SO = sulfóxidos substituídos³³. Estes últimos apresentam ainda o aspecto de reconhecimento diferencial do DNA dependendo da quiralidade do grupo sulfóxido.

Complexos de Pt(IV), que são mais solúveis em água, têm também sido alvo de intensas investigações^{103,104} e muito provavelmente serão usados na clínica no futuro. Atualmente o composto [PtCl₄(dach)], chamado de Ormaplatina¹⁰⁵, e o Iproplatina (4) (representado na Figura 3) estão em fase de testes clínicos nos E.U.A. O composto JM216 (5) (Figura 3), primeiro composto de platina que poderá vir a ser administrado oralmente¹⁰⁶, também está em fase de testes. Acredita-se que os complexos de Pt(IV) manifestem sua atividade biológica depois de sofrerem redução à Pt(II) dentro do organismo¹⁰⁷ e eles também provocam lesões celulares após ligarem-se ao DNA^{108,109}.

Outra linha é delineada pelos compostos binucleares de platina, denominados de bis(platina)¹¹⁰, que têm apresentado bons resultados de atividade antitumoral e parecem atuar por um mecanismo diferente dos complexos monoméricos¹¹¹. Estes complexos consistem de duas unidades [Pt(amina)_n]²⁺ ligadas através de uma diamina com cadeia carbônica de comprimento variável^{112,113,114}. Outros tipos de complexos dinucleares de platina têm sido sintetizados^{115,116,117}, também com bons resultados. Na figura 3 estão representados três diferentes complexos do tipo bis(platina) (6,7,8).

Em resumo, esta área da química bioinorgânica, embora esteja se desenvolvendo rapidamente, apresenta-se ainda como um campo largamente inexplorado e com perspectivas de grande crescimento.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Prof^a. Dr^a. Maria D. Vargas (Unicamp), Prof. Dr. Gilson H. M. Dias (Unicamp), Prof^a. Flávia C. Machado (UFJF) e a Mestranda Alba D. Q. Ferreira (Unicamp) pelas sugestões apresentadas.

GLOSSÁRIO¹¹⁸

Abertura Maior e abertura menor do DNA: Em razão de diferenças estruturais nas bases e assimetria na formação das ligações da 2'-desoxi-D-ribose, (3' e 5'), com o fosfato, a cadeia de DNA apresenta dois tipos de aberturas ou sulcos alternadamente. No caso do B-DNA, a abertura maior contém os átomos N(7) endocíclico e N(6) exocíclico da adenina, o O(6) exocíclico da timina, N(7) endocíclico e O(6) exocíclico da guanina e N(4) exocíclico da citosina. A abertura menor contém os átomos N(3) endocíclico da adenina, O(2) exocíclico da timina, N(3) endocíclico e N(2) exocíclico da guanina e O(2) exocíclico da citosina.

Agente terapêutico: Qualquer agente utilizado com o objetivo de curar ou aliviar os doentes.

Anticancerígeno: Qualquer agente utilizado no tratamento do câncer.

Antieméticos: Agente utilizado com o objetivo de eliminar vômitos.

Antraciclínicos: Grupo de antibióticos produzidos pelo fungo *Streptomyces peucetius* var. *caesius*, consistindo do anel tetraciclina ligado ao açúcar daunosamina.

Bactérias lisogênicas: Bactérias portadoras de DNA viral incorporado ao seu genoma.

Carcinogênico: Qualquer agente (químico, físico, bactéria ou vírus) que pode provocar o desenvolvimento de câncer em um organismo.

Células Eucarióticas: Células caracterizadas pela presença de um núcleo estruturalmente distinto e delimitado por membrana.

Células Procarióticas: Células caracterizadas pela ausência de um núcleo delimitado por membrana.

Citoplasma: A parte do protoplasma de uma célula que envolve o núcleo.

Citotoxicidade: Refere-se a dano ou destruição da célula causada por agente que afeta um processo essencial no ciclo celular.

Dose limitante: Efeito tóxico que limita a dose máxima a ser administrada ao doente.

Enzimas de reparo: Nome genérico dado a enzimas que identificam alterações na estrutura do DNA e efetuam correções. Podem ser endonucleases, que clivam a parte afetada; exonucleases, que retiram o fragmento; DNA polimerases, que preenchem a falha na cadeia e ligases, que consolidam os novos nucleotídeos na posição.

Genoma: O conjunto completo de todos os genes de um organismo.

Lise: Consiste no rompimento da célula causado pela destruição da membrana celular.

Mutagênese: A formação de uma mutação genética.

Nefrotoxicidade: Toxicidade renal.

Neoplasia: Qualquer tumor, benigno ou maligno.

Neuropatia periférica: Designação genérica para distúrbio dos nervos periféricos de qualquer etiologia.

Neurotoxicidade: Termo geral compreendendo toxicidade sobre o sistema nervoso central ou periférico.

Nucleobase: Termo genérico usado para as bases nitrogenadas encontradas em ácidos nucleicos.

Nucleosídeo: Nome genérico do grupo formado por um açúcar, geralmente D-ribose ou 2'-desoxi-D-ribose, ligado ao N(9) das purinas ou N(1) das pirimidinas por uma ligação β -N-glicosídica.

Nucleotídeo: Nome genérico dos nucleosídeos fosforilados.

Pacientes terminais: Pacientes incuráveis com sobrevida média estimada de 8 a 12 semanas.

Peptídeos: Polímeros formados por dois ou mais aminoácidos ligados entre si por uma ligação peptídica. São denominados de dipeptídeos, tripeptídeos, oligopeptídeos e polipeptídeos dependendo do número de aminoácidos na cadeia.

Proteínas: Biomoléculas constituídas de uma ou mais cadeias polipeptídicas.

Plasma: A parte líquida do sangue e da linfa.

Poliquimioterapia: Tratamento através da administração concomitante de várias drogas.

Quimioterapia: Tratamento por meio de agentes químicos que, além de poder interferir de modo variável sobre a doença, são passíveis de causar efeitos tóxicos, de maior ou menor intensidade, no organismo do doente.

REFERÊNCIAS

- Rosenberg, B.; van Camp, L.; Trosko, J. E.; Mansour, H.V.; *Nature* **1969**, 222, 385.
- Rosenberg, B.; van Camp, L.; *Cancer Res.* **1970**, 30, 1799.
- Furst, A.; Haro, R. T.; *Progress in Experimental Tumour Research* **1969**, 12, 120.
- Higby, D. J.; Wallace, H. G.; Holland, J. F.; *Cancer Chemother. Rep.* **1973**, 57, 459.
- Wallace, H. J.; Higby, D. J.; *Recent Results in Cancer Research: Platinum Coordination Complexes in Cancer Chemotherapy*; Connors, T. A.; Roberts, J. J., Eds.; Springer-Verlag, New York, 1974, p. 167.
- Wiltshaw, E.; Carr, B.; *Recent Results in Cancer Research: Platinum Coordination Complexes in Cancer Chemotherapy*; T. A.; Roberts, J. J., Eds.; Springer-Verlag, New York, 1974, p. 178.
- Cvitkovic, E.; Spaulding, J.; Bethune, V.; Martin, J.; Whitmore, W. F.; *Cancer* **1977**, 39, 1357.
- De Lena, M.; Lorusso, V.; Paradiso, A.; Tommasi, S.; *Inorg. Chim. Acta* **1987**, 137, 91.
- Sixth International Symposium on Platinum and Other Metal Coordination Compounds in Cancer Chemotherapy*, San Diego, 1991, p. 185 a 270.
- Platinum and other Metal Coordination Compounds in Cancer Chemotherapy*, Howell, B., Ed.; Plenum Press, New York, 1991.
- Barnard, C. J. F.; Cleare, M. J.; Hydes, P. C.; *Chem. Brit.* **1986**, 22, 1001.
- Barnard, C. F. J.; *Platinum Metals Rev.* **1989**, 33, 162.
- a) van der Veer, J. L.; Reedijk, J.; *Chem. Brit.* **1988**, 24, 775. b) Bellon, S. F.; Lippard, S. J.; *Biophys. Chem.* **1990**, 35, 179.
- Cleare, M. J.; *Coord. Chem. Reviews* **1974**, 12, 349.
- Sherman, S. E.; Lippard, S. J.; *Chem. Rev.* **1987**, 87, 1153.
- Umaphaty, P.; *Coord. Chem. Rev.* **1989**, 95, 129.
- Bruhns, S. L.; Toney, J. H.; Lippard, S. J.; *Progress in Inorganic Chemistry: Bioinorganic Chemistry*, Lippard, S.J., Ed.; John Wiley e Sons, Inc., NY, 1990, Vol. 38, p. 477.
- Sundquist, W. I.; Lippard, S. J.; *Coord. Chem. Rev.* **1990**, 100, 293.
- Dias, G. H. M.; *Quím. Nova* **1989**, 12, 57.
- Najjar, R.; *Quím. Nova* **1992**, 15, 323.
- Connors, T. A.; Jones, M.; Ross, W. C. J.; Braddock, P. D.; Khokhar, A. R.; Tobe, M. L.; *Chem.-Biol. Interact.* **1972**, 5, 415.
- Braddock, P. D.; Connors, T. A.; Jones, M.; Khokhar, A. R.; Melzack, D. H.; Tobe, M. L.; *Chem.-Biol. Interact.* **1975**, 11, 145.
- Cisplatin, Current Status and New Developments*, Prestayko, A. W.; Crooke, S. T.; Carter, S. K., Eds.; Academic Press, New York, 1980.
- Platinum Coordination Complexes in Cancer Chemotherapy*, Hacker, M. P.; Douple, E. B.; Krakoff, I. H., Eds.; Martinus Nijhoff Publishing, Boston, 1984.
- Platinum and other Metal Coordination Compounds in Cancer Chemotherapy*, (M. Nicolini, Ed.), Martinus Nijhoff Publishing, Boston, 1988.
- van Bensichem, M.; Farrell, N.; *Inorg. Chem.* **1992**, 31, 634.
- Farrell, N.; Kelland, L. R.; Roberts, J. D.; van Bensichem, M.; *Cancer Res.* **1992**, 52, 5065.
- Coluccia, M.; Nassi, A.; Lobeto, F.; Boccarelli, A.; Mariggio, M. A.; Giordano, D.; Intini, F. P.; Caputo, P.; Natili, G.; *J. Med. Chem.* **1993**, 36, 510.
- Cleare, M. J.; Hoeschele, J. D.; *Bioinorg. Chem.* **1973**, 2, 187.
- Bradner, W. T.; Rose, W. C.; Huftalen, J. B.; *Cisplatin, Current Status and New Developments*, Prestayko, A. W.; Crooke, S. T.; Carter, S. K., Eds.; Academic Press, New York, 1980, p. 171.
- Macquet, J. P.; Butuor, J. L.; *J. Natl. Cancer Inst.* **1983**, 70, 899.
- Hollis, L. S.; Amundsen, A. R.; Stern, E. W.; *J. Med. Chem.* **1989**, 32, 128.
- a) Farrell, N.; Kiley, D. M.; Schmidt, W.; Hacker, M. P.; *Inorg. Chem.* **1990**, 29, 397; b) Adomat, H.; Skov, K.A.; Fontes, A. P. S.; Farrell, N.; *Anticancer Drug Design* **1991**, 6, 233.
- Cleare, M. J.; Hydes, P. C.; Hepburn, D. R.; Malerbi, B. W.; *Cisplatin, Current Status and New Developments*, Prestayko, A. W.; Crooke, S. T.; e Carter, S. K., Eds.; Academic Press, New York, 1980, p. 149.
- Bloemink, M. J.; Engelking, H.; Karentzopoulos, S.; Krebs, B.; Reedijk, J.; *Inorg. Chem.* **1996**, 35, 619.
- Gund, A.; Keppler, B. K.; *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1994**, 33, 186.
- Webster, L. K.; Deacon, G. B.; Buxton, D. P.; Hillcoat, B. L.; James, A. M.; Ross, I. A. G.; Thomson, R. J.; Wakelin, L. P. G.; Willians, T. L.; *J. Med. Chem.* **1992**, 35, 3349.
- a) Howe-Grant, M. E.; Lippard, S. J.; *Metal Ions in Biological Systems*, Sigel, H., Ed.; Merce Dekker, New York, 1980, 11, p. 63; b) Green, M.; Garner, M.; Orton, D. M.; *Transition Met. Chem.* **1992**, 17, 164.
- Martin, R. B.; *Platinum, Gold, and Other Metal Chemotherapeutic Agents*, Lippard, S. J., Ed.; ACS Symposium series 209, Washington, 1983, p. 231.
- Appleton, T. G.; Hall, J. R.; Ralph, S. F.; Thompson, C. S. M.; *Inorg. Chem.* **1989**, 28, 1989.
- Roos, I. A. G.; Henry, C.M.; Hillcoat, B. L.; *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* **1985**, 26, 1023.
- Para uma revisão deste tópico veja: Farrell, N.; *Transition Metal Complexes as Drugs and Chemotherapeutic Agents*, James, B. R.; Ugo, R., Eds.; Reidel-Kluwer, Dordrecht, Netherlands, 1989, Cap.4.
- Reedijk, J.; Fichtinger-Schepman, A. M. J.; van Oosterom, A. T.; van der Putte, P.; *Structure and Bonding* **1987**, 67, 53.
- Lippard, S. J.; *Pure e Appl. Chem.* **1987**, 59, 731.

45. Roberts, J. J.; Knox, R. J.; Friedlos, F.; Lyndall, D. A.; *Biochemical Mechanism of Platinum antitumor Drugs*, McBrain, D. C. H.; Slater, T. F., Eds.; IRL Press, Oxford-Washington, DC, 1987, p. 29.
46. Meyn, R. E.; Jenkins, S. F.; Thompson, L. H.; *Cancer Res.* **1982**, *42*, 3106.
47. Dijt, F. J.; Fichtinger-Schepman, A. M. J.; Berends, F.; Reekijk, J.; *Cancer Res.* **1988**, *48*, 6058.
48. Bose, R. N.; Cornelius, R. D.; Viola, R. E.; *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 4403.
49. Reilly, M. D.; Marzilli, L. G.; *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 8299.
50. Sundquist, W. I.; Lippard, S. J.; Stollar, B. D.; *Biochemistry* **1986**, *25*, 1520.
51. Martin, R. B.; *Acc. Chem. Res.* **1985**, *18*, 32.
52. Martin, R. B.; *Frontiers in Bioinorganic Chemistry*, Xavier, A. V., Ed.; VCH Verlagsgesellschaft mbh, Weinheim, 1986, p. 71.
53. Lippert, B.; *Gazzetta Chimica Italiana* **1988**, *118*, 153.
54. Dijt, F. J.; Canters, G. W.; den Hartog, J. H. J.; Marcelis, A. T. M.; Reedijk, J.; *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 3644.
55. Reily, M. D.; Marzilli, L. G.; *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 4916.
56. Bancroft, D. P.; Lepre, C. A.; Lippard, S. J.; *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 6860.
57. Iwamoto, M.; Mukundan Jr., S.; Marzilli, L. G.; *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 6238.
58. Pinto, A. L.; Lippard, S. J.; *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1985**, *82*, 4616.
59. Plooy, A. C. M.; van Dijk, M.; Lohman, P. H. M.; *Cancer Res.* **1984**, *44*, 2043.
60. Manchausen, L. L.; Rahn, R. O.; *Cancer Chemother. Rep.* **1975**, *59*, 643.
61. Scheller, K. H.; Scheller-Krattiger, V.; Martin, R. B.; *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 6833.
62. Caradonna, J. P.; Lippard, S. J.; Gait, M. J.; Singh, M. J.; *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 5793.
63. Girault, J. P.; Chottard, J. C.; Guittet, E. R.; Lallemand, J. Y.; Huynh-Dinh, T.; Igolén, J.; *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1982**, *109*, 1157.
64. van der Veer, J. L.; van der Wilt, H.; den Hartog, J. H. J.; Fichtinger-Schepman, A. M. J.; Reedijk, J.; *Inorg. Chem.* **1986**, *25*, 4657.
65. Eastman, A.; *Biochemistry* **1985**, *24*, 5027.
66. Eastman, A.; Schulte, N.; Sheibani, N.; Sorenson, C. M.; *Platinum and other Metal Coordination Compounds in Cancer Chemotherapy*, Nicolini, M., Ed.; Martinus Nijhoff Publishing, Boston, 1988, p. 178.
67. Reedijk, J.; *Inorg. Chim. Acta* **1992**, *198-200*, 873.
68. Lempers, E. L. M.; Reedijk, J.; *Adv. Inorg. Chem.* **1991**, *37*, 175.
69. Hacker, M. P.; Roberts, J. D.; *Platinum and other Metal Coordination Compounds in Cancer Chemotherapy*, Nicolini, M., Ed.; Martinus Nijhoff Publishing, Boston, 1988, p. 163.
70. Eastman, A.; Barry, M. A.; *Biochem.* **1987**, *26*, 3307.
71. Eastman, A.; *Chem. Biol. Interact.* **1987**, *61*, 241.
72. Hamilton, T. C.; Wwinker, M. A.; Louie, K. G.; Batist, G.; Behrens, B. C.; Tsurno, T.; Grotzinger, K. R.; McKoy, W. M.; Young, R. C.; Ozols, R. F.; *Biochem. Pharmac.* **1985**, *34*, 2583.
73. Kelly, S. L.; Basu, A.; Teicher, B. A.; Hacker, M. P.; Hamer, D.; Lazo, J. S.; *Science* **1988**, *241*, 1813.
74. Inagaki, K.; Kidani, Y.; *Inorg. Chim. Acta* **1980**, *46*, 35.
75. van Hemelryck, B.; Guittet, E.; Chottard, G.; Girault, J. P.; Huynh-Dinh, T.; Lallemand, J. Y.; Igolén, J.; Chottard, J. C.; *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 3037.
76. Scovell, W. M.; Kroos, L. R.; *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1982**, *104*, 1597.
77. Scovell, W. M.; Collart, F.; *Nucleic Acids Res.* **1985**, *13*, 2881.
78. Sherman, S. E.; Gibson, D.; Wang, A. H. J.; Lippard, S. J.; *Science* **1985**, *230*, 412.
79. den Hartog, J. H. J.; Altona, G.; Chottard, J. P.; Girault, J. P.; Lallemand, J. Y.; De Leeuw, F. A. A. M.; Marcelis, A. T. M.; Reedijk, J.; *Nucl. Acids Res.* **1982**, *10*, 4715.
80. Heyl, B. L.; Shinozuka, K.; Miller, S. K.; van der Veer, D.; Marzilli, L. G.; *Inorg. Chem.* **1985**, *24*, 661.
81. Hambley, T. W.; *Comments on Inorg. Chem.* **1992**, *14*, 1.
82. Lippert, B.; *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 5691.
83. Beyerle-Pfnür, R.; Brown, B.; Faggiani, R.; Lippert, B.; Lock, C. J. L.; *Inorg. Chem.* **1985**, *24*, 4001.
84. Loehrer, P. J.; Einhorn, L. H.; *Ann. Intern. Med.* **1984**, *100*, 704.
85. Fiorentino, M. V.; Ghiotto, C.; *Inorg. Chim. Acta* **1987**, *137*, 59.
86. Strum, S. D.; McDermed, J. E.; Liponi, D. F.; *J. Clin. Oncol.* **1985**, *3*, 245.
87. Ozols, R. F.; *Seminars in Oncology* **1989**, *16*, 22.
88. Rosenberg, B.; *Cancer* **1985**, *15*, 2303.
89. Ozols, R. F.; Corden, B. J.; Jacobs, J.; *Ann. Intern. Med.* **1984**, *100*, 19.
90. Al-Sarraf, M.; Fletcher, W.; Oishi, N.; Pugh, R.; Wewlett, J. S.; Balducci, L.; McCracken, J.; Padilla, F.; *Cancer Treat. Rep.* **1982**, *66*, 31.
91. Ozols, R. F.; Young, R. C.; *Seminars in Oncology*, **1985**, *12*, 22.
92. Qazi, R.; Chang, A. Y. C.; Borch, R. F.; *J. Natl. Cancer Inst.* **1988**, *80*, 1486.
93. Bohm, S.; Di Re, F.; Oriana, S.; Pirovano, C.; Salvatori, P.; Spatti, G. B.; Zunino, F.; *Sixth International Symposium on Platinum and Other Metal Coordination Compounds in Cancer Chemotherapy*; San Diego, 1991, p. 176.
94. Kris, M. G.; Gralla, R. J.; Tyson, L. B.; Clark, R. A.; Kelsen, D. P.; Reilly, L. K.; Groshen, S.; Bosl, G. J.; Kaulman, L. A.; *Cancer* **1985**, *55*, 527.
95. Delgado, J. L.; *Vitro* **1994**, *1(4)*, 14
96. Cersosimo, R. J.; *Cancer Treat. Rev.*; **1989**, *16*, 195.
97. *Sixth International Symposium on Platinum and Other Metal Coordination Compounds in Cancer Chemotherapy*, San Diego, 1991, p. 147-183
98. *Chemistry of Antitumor Agents*, Wilman, D. E. V., Ed.; Chapman and Hall, New York, 1990, cap. 2.
99. Wang, A. H. J.; Nathans, J.; van der Marel, G.; Van Boom, J. H.; Rich, A.; *Nature* **1978**, *276*, 471
100. Colamarino, P.; Orioli, P. L.; *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **1975**, 1656.
101. Bersanetti, E.; Pasini, A.; Pezzoni, G.; Pratesi, G.; Savi, G.; Supino, R.; Zunino, F.; *Inorg. Chim. Acta* **1984**, *93*, 167.
102. Canty, A. J.; Stevens, E. A.; *Inorg. Chim. Acta* **1981**, *55*, L57.
103. Brandon, R. J.; Dabrowiak, J. C.; *J. Med. Chem.* **1984**, *27*, 861.
104. Kelland, L. R.; *Drugs Future* **1993**, *18*, 551.
105. Christian, M. C.; Spriggs, D.; Tutsch, K. D.; O'Rourke, T.; von Hoff, D. D.; Jacob, J. L.; Reed, E.; *Proceedings of The Sixth International Symposium on Platinum and Other Metal Coord. Compounds in Cancer Chemotherapy*, Howell, S.B., Ed.; New York, Plenum Press, 1990, 453.
106. Groen, H. J. M. et al, *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.* **1996**, *15*, 378.
107. Fichtinger-Schepman, A. M. J.; van der Veer, J. L.; den Hartog, J. H. J.; Lohman, P. H. M.; Reedijk, J.; *Biochem.* **1985**, *24*, 707.
108. Roberts, J. J.; Fraval, H. N. A.; *Biochimie* **1978**, *60*, 869.
109. Bocian, E.; Laverick, M.; Nias, A. H. M.; *Br. J. Cancer* **1983**, *47*, 503.

110. Farrell, N.; de Almeida, S. G.; Skov, K. A.; *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 5018.
111. Farrell, N.; Qu, Y., Feng, L.; van Houten, B.; *Biochem.* **1990**, *29*, 9522.
112. Qu, Y.; Farrell, N.; *Inorg. Chem.* **1992**, *31*, 930.
113. Qu, Y.; de Almeida, S. G.; Farrell, N.; *Inorg. Chim. Acta* **1992**, *201*, 123.
114. Farrell, N.; Appleton, T. G.; Qu, Y.; Roberts, J. D.; Fontes, A. P. S.; Skov, K. A.; Wu, P.; Zou, Y., *Biochem.* **1995**, *34*, 15480.
115. Gravina, A.; Pasini, A.; Pincciroli, F.; Micheloni, A.; Zunino, F.; *Inorg. chim. Acta* **1989**, *157*, 165.
116. Bromhead, J. A.; Rendina, L. M.; Sterns, M.; *Inorg. Chem.* **1992**, *31*, 1880.
117. Ablul, R.; Cleaver, M. B.; Taylor, J. S.; *Inorg. Chem.* **1992**, *31*, 3636.
118. a) Voet, D.; Voet, J. G.; *Biochemistry*, John Wiley e Sons, New York, 1990; b) Telles Grilo, M. L.; Magalhães, P. J.; *Quím. Nova* **1994**, *17*, 342; c) Garnier, M.; Delamare, V.; *Dicionário de Termos Técnicos de Medicina*, Delamare, J., Ed.; Organização Andrei Editora Ltda., São Paulo, 1984. d) Goodman, L. S.; Gilman, A.; *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, Gilman, A. G.; Rall, T. W.; Nies, A. S.; Taylor, P., Eds.; Pergamon Press, New York, 1990.