Adam Arai Martens

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DE COMPOSTOS ENANTIOMÉRICOS DE TELÚRIO
SOBRE A BIOLOGIA CELULAR DE MELANOMAS HUMANOS – ENFOQUE EM
MORFOLOGIA E PROCESSOS CELULARES**

Tese apresentada ao Departamento de
Biologia Celular e do Desenvolvimento do
Instituto de Ciências Biomédicas da
Universidade de São Paulo, para
obtenção do Título de Doutor em Ciências.
Área de concentração: Biologia Celular e
Tecidual

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Gláucia Maria
Machado Santelli

Versão original

São Paulo
2017

RESUMO

MARTENS AA. **Avaliação dos efeitos de compostos enantioméricos de telúrio sobre a biologia celular de melanomas humanos – enfoque em morfologia e processos celulares.** [tese (Doutorado em Biologia Celular e Tecidual)]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo; 2017

O melanoma metastático apresenta um alto grau de heterogeneidade em relação ao perfil de mutação em cada indivíduo, o que aumenta a dificuldade de sucesso no tratamento, com altos níveis de resistência e recidiva nos pacientes. Mesmo os avanços atuais nas áreas de medicina personalizada e imunoterapia não apresentaram a taxa de eficácia esperada no tratamento do melanoma. Estudos mostraram compostos de telúrio apresentando efeitos de seletividade em direção a células tumorais, poupando células saudáveis, chamado de efeito sensor efetor. Assim, testamos dois compostos orgânicos enantioméricos de telúrio (compostos RF-13R e RF-13S) sobre a biologia celular de linhagens de melanócitos (NGM) e melanoma metastático (HT-144, SK-Mel-19, SK-Mel-28 e SK-Mel-147) com diferentes graus de comprometimento em genes importantes para o estabelecimento e desenvolvimento do câncer, variando de 1 a 3 genes mutados. Após determinar a aplicabilidade do composto através de ensaio de atividade hemolítica e determinar o IC₅₀ dos compostos para cada linhagem, experimentos de imunofluorescência mostraram seletividade para linhagens tumorais, evidenciando perda de morfologia característica, perda de volume citoplasmático e formação de projeções bolhosas de membrana, chamadas de *blebs*. Estes resultados foram corroborados pelo ensaio de microscopia em tempo real. Além disso, foram avaliados os processos de ciclo celular e morte celular das linhagens tumorais; o ensaio de ciclo celular mostrou dois perfis de parada em ciclo celular: bloqueio em G1 para as linhagens SK-Mel-28 e SK-Mel-147 e bloqueio em G2/M para as linhagens SK-Mel-19 e HT-144. Já o ensaio de morte celular mostrou que as células expostas ao composto não morrem por ativação de caspase 9, embora não seja excluída a possibilidade de outros mecanismos de morte não avaliados. Diferentes parâmetros de migração celular (ensaio de fechamento de ferida, migração em *transwell*, velocidade e direcionalidade) mostraram comprometimento de migração associado à perda de adesão e morfologia característica. Juntamente aos aspectos celulares, avaliamos o possível efeito genotóxico dos compostos RF-13R e RF-13S e encontramos aumento de formação de micronúcleo somente na linhagem SK-Mel-28. Durante os diferentes experimentos também pudemos notar uma diferença na potência dos dois compostos: a forma RF-13S era capaz de induzir efeitos danosos em concentrações mais baixas que seu enantiômero na maior parte dos experimentos deste trabalho. Os resultados encontrados corroboram o efeito sensor efetor relatado na literatura para compostos de telúrio e colocam essas organoteluranas como promissoras drogas no tratamento de melanoma metastático.

Palavras-chave: Melanoma metastático. Telúrio. Organotelúrio. Biologia celular. Morfologia.

ABSTRACT

MARTENS AA. **Evaluation of the effects of enantiomeric tellurium compound on the cell biology of melanomas – focus in morphology and cellular processes.** [Ph. D. thesis (Cell and Tissue Biology)] – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo; 2017.

Metastatic melanoma displays a high degree of heterogeneity regarding the mutation profile in each subject, which increases the difficulty for the success of treatment, showing high levels of resistance and relapse in patients. Even the current advancements in the field of personalised medicine and immunotherapy have not shown the expected efficacy levels on the treatment of melanoma. Studies show tellurium compounds displaying selective effects towards tumour cells, sparing healthy ones, called sensor effector effect. Thus, we tested two enantiomeric organic tellurium compounds (compounds RF-13R and RF-13S) on the cell biology of a melanocyte cell line (NGM) and metastatic melanoma cell lines (HT-144, SK-Mel-19, SK-Mel-28 and SK-Mel-147) with different degrees of compromise in genes important for the establishment and development of cancer, varying from one to three mutated genes. After determining the applicability of the compounds by a haemolytic activity assay and determining the IC_{50} of the compounds for each cell line, immunofluorescence experiments showed selectivity for tumour cell lines, evidenced by loss of typical morphology, loss of cytoplasmic volume and formation of membrane blebs. These results were corroborated by the time lapse microscopy assay. Besides, we evaluated the processes of cell cycle and cell death of tumour cell lines; cell cycle assay show two different profiles of cell cycle blockade: G1 blockade for SK-Mel-28 and SK-Mel-147 and G2/M blockade for SK-Mel-19 and HT-144. On the other hand, the cell death assay showed that cells exposed to the compounds do not die by caspase 9 activation, although we cannot exclude the possibility of other cell death mechanisms not evaluated. Different cell migration parameters (wound healing assay, transwell migration, velocity and directionality) showed migration compromise associated with loss of cell adhesion and typical morphology. Along with cellular aspects, we evaluated the possible genotoxic effect of compounds RF-13R and RF-13S, and found increased formation of micronuclei only in cell line SK-Mel-28. During the study, different experiments showed difference in the potency of the compounds: RF-13S was able to induce deleterious effects in lower concentrations than its enantiomer in most of the assays performed in this work. The results found herein corroborate the sensor effector capability associated with tellurium compounds found in literature and set those organotellurium compounds as promising drugs for the treatment of metastatic melanoma.

Keywords: Metastatic melanoma. Tellurium. Organotellurium. Cell Biology. Morphology.

1 INTRODUÇÃO

1.1 CÂNCER

O câncer está entre os maiores causadores de morbidade e mortalidade ao redor do mundo, com aproximadamente 14 milhões de novos casos e 8 milhões de mortes relacionadas ao câncer em 2012; e projeta-se que o número de casos aumente em aproximadamente 75% mundialmente em duas décadas, atingindo a marca de 25 milhões de novos casos¹.

A ocorrência de câncer remonta à multicelularização dos organismos, embora não muitas evidências tenham resistido aos danos do tempo. O registro de tumor mais antigo em humanos até o presente momento é de um osteosarcoma de quase dois milhões de anos atrás (1,98 milhões de anos) encontrado nos fósseis da sexta vértebra torácica de um menino de 12 ou 13 anos de idade². Já a descrição documental mais antiga de câncer em humanos data de 3000 A.C., em um escrito egípcio de cirurgia (chamado Papiro Cirúrgico de Edwin Smith) atribuído a Imhotep, o mais antigo médico conhecido. Nele estão descritos alguns casos de tumores e ulcerações: um dos casos (caso 45) relata o exame de um homem com um tumor inchado na mama, que se apresentava frio ao toque, sem febre; o tumor também não apresentava granulação e secreção de fluidos. Quanto ao tratamento, o escrito simplesmente dizia: “Não há nenhum. Se vós encontrardes tumores inchados em qualquer membro de um homem, deveis tratá-lo de acordo com aquelas orientações”, o que provavelmente indica que o tratamento era a ausência de tratamento³.

Acredita-se que o nome câncer tenha sido cunhado pelo médico grego Hipócrates (460-370 A.C. – considerado o pai da medicina) que, para descrever os tumores ulcerativos e não-ulcerativos que encontrava em seus pacientes, usou o termo “karkinos” (καρκινος – caranguejo, em grego), pois os tumores malignos apresentavam vasos dilatados ao seu redor que lembravam a forma de um caranguejo enterrado na areia com as pernas distribuídas em círculo⁴.

Atualmente, células cancerosas são definidas por duas peculiares propriedades: escape dos mecanismos de controle da homeostase do tecido, promovendo crescimento e proliferação celular, e pela capacidade de invadir e colonizar territórios não-autólogos⁵. Entretanto, essa definição é muito simplista, e a cada ano o conhecimento da complexidade dos eventos inter- e intracelulares no câncer aumenta. Um exemplo disso são as revisões de Hanahan e Weinberg que, em 2000, listavam 6 *hallmarks* do câncer, sendo eles: (I) evasão de apoptose,

(II) auto-suficiência em fatores de crescimento, (III) insensibilidade para sinais anti-proliferativos, (IV) invasão tecidual e metástase, (V) potencial replicativo ilimitado e (VI) neoangiogênese sustentada⁶; onze anos depois, os mesmos autores revisitaram essa lista e acrescentaram 4 novos aspectos: (VII) desregulação energética celular, (VIII) evasão de sistema imune, (IX) inflamação promovida pelo tumor e (X) instabilidade genômica e mutação⁷. Possivelmente, futuras análises permitirão a adição de ainda mais características, dado o complexo *cross-talk* que existe entre diferentes inibidores, ativadores e mediadores de vias de sinalização envolvidas com o desenvolvimento e estabelecimento do câncer.

1.2 MELANOMA

Dentre os cânceres, o câncer de pele é o tipo de câncer mais comum entre a população branca mundialmente, e pode ser dividido em duas categorias: não-melanoma (carcinoma de célula basal – BCC, e carcinoma de célula escamosa – SCC, além de alguns tipos mais raros de câncer de pele) e melanoma maligno. Dentre estes, o melanoma maligno cutâneo é o câncer com maior crescimento de incidência na população branca, dobrando a incidência a cada 10-20 anos⁸. A alta incidência de melanoma, principalmente em caucasianos residentes próximos ao equador⁹, e a dificuldade de tratamento em seu estágio avançado o tornam um grande problema de saúde pública: embora represente somente 2-4% dos casos de câncer de pele, o melanoma é responsável por 80% de todas as mortes por câncer de pele. A taxa de sobrevida após 5 e 10 anos para pacientes com melanoma tratado em estágios iniciais é de 90 e 91%, respectivamente; entretanto, pacientes com melanoma metastático apresentam somente 16% de taxa de sobrevida após 5 anos¹⁰. Por essa razão, torna-se importante o estabelecimento de terapias que possam sensibilizar estas células sistemicamente.

Apesar de os principais fatores de risco para o desenvolvimento de melanoma serem histórico familiar, presença de *nevi* e melanoma prévio, o *background* de mutações de cada melanoma também se apresenta como um fator importante na progressão da doença, bem como em seu tratamento. O melanoma pode ser caracterizado com base em padrões histológicos de progressão (modelo de Clark): *nevus* benigno, *nevus* displásico, fase de crescimento radial, fase de crescimento vertical e melanoma metastático. O *nevus* benigno é uma proliferação de melanócitos normais e compreende uma lesão benigna; quando há um aumento aberrante

de proliferação no *nevus* benigno ou em uma nova localidade, com presença de células atípicas e lesões assimétricas com bordas irregulares, chamamos de *nevus* displásico. Posteriormente, durante a fase de crescimento radial, essas células adquirem a capacidade de proliferar dentro dos limites da epiderme, e evoluem de uma atipia para um fenótipo canceroso, podendo adentrar papilas dérmicas na epiderme; então, as lesões passam à fase de crescimento vertical, em que adquirem a habilidade de degradar a membrana basal e invadir a derme, formando um nódulo de maior volume¹¹. Em estudos posteriores, pesquisadores associaram cada estágio de progressão a uma carga de mutações, com mutações em BRAF ainda na fase de *nevus* benigno, perda de CDKN2A e PTEN na fase displásica, aumento de CD1 na fase de crescimento radial e perda de expressão de E-caderina, expressão de N-caderina, integrina $\alpha V\beta 3$, MMP2 e survivina na fase de crescimento vertical¹².

Outro método de classificação é o TNM (adotado pela AJCC – Junta Americana em Câncer), que se baseia na espessura do tumor primário (T – T1 a T4), número de nodos metastáticos envolvidos (N – N0 a N3) e localização dos sítios de metástase (M – M0, M1a, M1b e M1c)¹³. Entretanto, clinicamente, o melanoma é dividido em 4 estágios: no estágio I estão os tumores primários, e este é dividido em subgrupos (IA e IB), baseados na disseminação pelas papilas dérmicas; no estágio II (subdividido em IIA, IIB e IIC), estão os casos com aumento na profundidade da lesão primária (maior invasividade); o estágio III (também subdividido em IIIA, IIIB e IIIC) compreende pacientes com inchaço dos linfonodos regionais ou comprometimento nodal contralateral; pacientes com metástases distantes são considerados estágio IV¹⁴.

Os melanócitos são células dendríticas produtoras de melanina – pigmento que dá cor a olhos, pele e anexos em vertebrados. Na pele, eles ficam localizados na camada basal da epiderme, onde proliferam muito pouco e estabelecem uma razão de 1:5 com queratinócitos basais¹⁵. Essa relação é muito intrincada, com os queratinócitos estabelecendo uma regulação parácrina sobre os melanócitos através da secreção de diferentes fatores de crescimento e citocinas que regulam crescimento, sobrevivência, adesão, migração e diferenciação dos melanócitos¹⁶. Em contraposição, os melanócitos estimulados produzem vesículas de melanina – chamados melanossomos – que são exocitados e imediatamente internalizados pelos queratinócitos adjacentes, protegendo seus núcleos contra os efeitos deletérios causados pela radiação UV¹⁷.

Os melanoblastos, células precursoras de melanócitos, têm origem na crista neural – porção do ectoderma que liga o tubo neural e o ectoderma epidérmico; durante o processo de neurulação, essa população de células (células da crista neural que darão origem aos melanócitos) sofre transição epitélio-mesenquimal e delamina, migrando dorso-ventralmente e dorso-lateralmente através de um processo heterogêneo e complexo para todas as partes do ectoderma epitelial, a fim de colonizar toda a epiderme do indivíduo¹⁸.

Segundo Virchow¹⁹, “Neoplasias surgem segundo a mesma lei que regula o desenvolvimento embrionário”. Devido ao caráter altamente migratório dos melanoblastos e seu alto grau de interação com o ambiente extracelular, o melanoma – tumor maligno de melanócitos – apresenta uma maior facilidade de reativação desse fenótipo, com alto potencial de agressividade e invasão tecidual e migração, ou seja, maior potencial metastático. Para que realizem esse processo, as células devem perder a adesão célula-célula e célula-matriz, degradar a matriz extracelular, e realizar a transmigração para a derme, onde se infiltram em vasos e migram para sítios distantes²⁰. Estes processos envolvem extensivos rearranjos do citoesqueleto e geração de polaridade celular, promovido por vias de sinalização (como a via das Rho-GTPases Rho/Rac/CDC42), receptores de membrana (como as integrinas e receptores de fatores de crescimento) e interações com a matriz extracelular (revisado em Pandya et al.²¹).

A facilidade de metastatização torna interessante a busca de drogas que tenham a capacidade de inibir o potencial metastático de células de melanoma, atuando sobre elementos do citoesqueleto, metaloproteinases de matriz e diminuindo o potencial angiogênico²². Entretanto, a terapia para tratamento de melanomas ainda hoje se apresenta muito problemática, pois os índices de recidiva após os tratamentos utilizados atualmente ainda são muito altos.

1.3 TERAPIAS CONTRA MELANOMA

O quimioterápico mais comumente utilizado para o tratamento de melanomas metastáticos é o dacarbazine, um agente alquilante citotóxico aprovado pelo FDA (órgão estadunidense de regulamentação de drogas e alimentos – equivalente à nossa ANVISA) em 1975 ,que

apresentou taxas de respostas de 20% para pacientes com melanoma metastático, sendo desde então considerado o regime de tratamento padrão contra o qual são comparados novos compostos, sendo considerado o grupo controle até mesmo nas pesquisas clínicas de terapias alvo-dirigidas e imunoterapias²³. Um levantamento com 30 testes clínicos com novos agentes quimioterápicos ou combinações de tratamentos comparados com o tratamento somente com dacarbazine não mostrou melhoras nos índices de resposta ao tratamento e sobrevivência, o que levou este composto a permanecer por tanto tempo como droga de escolha para o tratamento dessa doença²⁴.

Uma das maiores limitações no tratamento do melanoma metastático é que a complexidade genética dos tumores de melanoma é muito grande. Diferentes grupos de pesquisa mostraram que melanomas originários de diferentes regiões do corpo apresentam diferentes mutações e níveis de expressão de determinados oncogenes, determinando assim subgrupos de melanomas de acordo com um padrão genético^{25,26}, podendo apresentar até diferentes populações dentro de um mesmo tumor²⁷. Essa variabilidade genética está sendo atualmente abordada com o intuito de desenhar drogas que atuem especificamente em proteínas do ciclo celular, intermediários de vias de sinalização, receptores e outros, que estejam mutados naquele subtipo ou subpopulação de melanoma, permitindo terapias individualizadas²⁸. Um grande avanço era esperado com o desenvolvimento de drogas altamente direcionadas inibidoras de isoformas mutadas de proteínas específicas, como o vemurafenib e o dabrafenib – que inibem a forma mutada BRAF^{V600E}, presente em quase metade dos casos de melanoma metastático²⁹. Entretanto, apesar de as respostas iniciais serem muito positivas, apresentando uma regressão tumoral rápida, a recidiva acontecia após 6 a 7 meses, com desenvolvimento de resistência ao tratamento; um estudo de caso mostrou focos de metástase de melanoma adquirindo mutações em outros genes após um esquema de tratamento com vemurafenib, trametinib (inibidor de MEK) e vemurafenib+trametinib, com desenvolvimento de mutação na proteína NRAS^{G13R} [30], o que realça a necessidade de pesquisa de novas drogas e mecanismos de tratamento de melanoma metastático.

Mais recentemente, o desenvolvimento de anticorpos capazes de suprimir o bloqueio imune promovido pelas células tumorais no organismo abriu uma nova janela de possibilidades para o tratamento de melanoma. O primeiro alvo dessa abordagem foi a molécula CTLA-4 (*cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4*), um receptor encontrado na superfície de

células T ativadas; quando ligado a uma proteína ativadora, CTLA-4 induz uma *downregulation* dessas células, diminuindo a resposta imune do indivíduo frente o câncer; assim sendo, o anticorpo monoclonal ipilimumab se liga competitivamente ao receptor CTLA-4 e inibe sua ativação, liberando o organismo dessa supressão imune induzida pelo câncer, aumentando a sobrevivência e atividade dos linfócitos T no combate às células tumorais³¹.

Embora os avanços sejam visíveis, o caminho para o desenvolvimento de um esquema de tratamento efetivo contra o melanoma ainda é muito tortuoso: um estudo recente mostrou que a terapia combinada de vemurafenib (inibidor de via de sinalização) e ipilimumab (imunoterapia), que poderia garantir maior sucesso contra as células tumorais, apresentou o desenvolvimento de hepatotoxicidade grave nos pacientes em estudos de fase 1, sendo encerrado prematuramente³².

1.4 TELÚRIO

Telúrio é um elemento químico raro não-essencial da família dos calcogênios, que também abrange oxigênio, enxofre, selênio e polônio; e por muito tempo foi considerado tóxico e sem nenhuma atividade biológica. Ele raramente é encontrado em seu estado livre, normalmente fazendo parte de outros minérios, sendo que grande parte do telúrio comercial é recuperado do lodo do refinamento de cobre e é usado em diversas áreas industriais, como indústria química (catalisador, cobertura metálica, pigmentação), tecnológica (células solares de calculadoras e câmeras), automotiva (vulcanização de borracha e como componente de células de energia)³³, além do seu uso mais recente na área médica diagnóstica (fazendo parte de *quantum dots* – nanoestruturas usadas para rastrear e imagear macromoléculas em uma célula ou células em um tecido)^{34,35} e terapêutica, que será discutido adiante.

Diferente do selênio, que é encontrado na composição de proteínas – chamadas de selenoproteínas – em bactérias, aves e mamíferos³⁶, não há ocorrência natural de telurometioninas e telurocisteínas, devido às características químicas do telúrio, sendo encontrado em bactérias, fungos e leveduras somente como resultado da incorporação errônea de telúrio no lugar de enxofre e selênio³⁷. Entretanto, verificou-se que selenoproteínas e selenocompostos de baixo peso molecular reduzem o risco de câncer em

camundongos³⁸; assim como no caso do selênio, foi visto que compostos de organotelúrio têm-se provado menos tóxicos e com mais aplicações do que se considerava³⁹.

Dentre os compostos de telúrio, podemos dividi-los em três categorias: nanoestruturas, compostos inorgânicos, e compostos orgânicos. Nanoestruturas de telúrio, como nanoredes⁴⁰ e nanobastões^{41,42} apresentaram citotoxicidade contra células tumorais e indução de apoptose, se apresentando como potenciais terapias anticâncer, mas também levantando a questão da exposição ocupacional de trabalhadores que mantêm contato direto com esses nanomateriais gerados durante processos de extração, purificação ou produção de equipamentos e materiais que usem este composto.

Alguns complexos contendo telúrio, como o composto orgânico (3E)-4-cloro-3-[dicloro(4-metoxifenil)telanil]-2-metilbut-3-en-2-ol (chamado de RT-04) e o composto inorgânico tricloro(dioxietileno-O-O')-telurato – mais conhecido como AS101 – têm sido estudados sob o ponto de vista de efeitos biológicos⁴³. Dentre estes, o mais estudado é o AS101, que vem apresentando uma miríade de efeitos biológicos, como efeito radioprotetor⁴⁴, quimiprotetor^{45,46}, prevenção e tratamento de alopecia⁴⁷, como potente imunomodulador^{48,49,50}, além de promover a debilitação de células tumorais, que os tornam um interessante objeto de estudo no tratamento de câncer (revisado em Sredni⁵¹).

Já o desenvolvimento de compostos orgânicos de telúrio está em expansão, compreendendo diferentes arranjos moleculares que, por consequência, apresentam diferentes características e efeitos biológicos. Um dos compostos orgânicos de telúrio mais estudados é o difenil ditelureto (DPDT – *Diphenyl ditelluride*), uma das moléculas orgânicas mais simples de telúrio, usada como intermediário na síntese orgânica⁵².

Há estudos que comparam diretamente os efeitos do composto orgânico DPDT e do composto inorgânico TeCl_4 *in vivo* em astrócitos de ratos⁵³ e em células em cultura⁵⁴, entretanto as respostas foram muito incongruentes, com o TeCl_4 induzindo apoptose e o DPDT supostamente induzindo oncoses nos astrócitos enquanto nas linhagens celulares foi o DPDT que induziu apoptose e o TeCl_4 induziu necrose. Entretanto, estes resultados somente reforçam a ideia de que os compostos de telúrio (tanto orgânicos quanto inorgânicos) têm efeitos sobre a biologia celular de eucariotos, sendo necessários estudos mais aprofundados para esclarecer os mecanismos de citotoxicidade e indução de morte celular. Por enquanto,

acredita-se que a citotoxicidade de telúrio é consequência de sua alta capacidade redox, que reage com grupos tiol de diferentes proteínas fundamentais para os processos celulares tanto de células não tumorais quanto para células do câncer⁵⁵. Entretanto, tem-se verificado para estes compostos uma seletividade em direção a células tumorais, que parece estar relacionada a uma sobrecarga de estresse oxidativo em células tumorais que não é encontrado em células normais⁵⁶.

O alto índice de mortes por melanoma metastático, causado pela dificuldade de ressecção do tumor, aliado à alta resistência às terapias anticâncer utilizadas até o presente, o tornam um importante objeto de estudo. Apesar dos avanços no campo da medicina personalizada, que faz uso do perfil genético de cada tumor para o uso de drogas inibidoras de vias de sinalização (individualmente ou em associação), e imunoterapias, que atuam liberando células imunes de um bloqueio promovido pelo tumor, ainda é interessante o estudo para o desenvolvimento e aplicação de drogas que possam promover um aumento na efetividade de resposta frente o tratamento e também que ultrapassem as limitações mais graves no melanoma metastático – resistência e recidiva.

Sob esse prisma, o presente trabalho pretende contribuir para a descoberta e estabelecimento de novas abordagens no tratamento de melanoma metastático. Para isso, avaliamos os efeitos de dois compostos orgânicos enantioméricos de telúrio sobre a biologia celular de linhagens de melanoma metastático. Embora ambos os compostos sejam formados pelo mesmo número de átomos de cada elemento, o arranjo tridimensional em torno de seu carbono quiral pode lhes conferir características peculiares um em relação a outro. Estudos preliminares mostraram diferentes efeitos, com maior ou menor agressividade nas alterações de morfologia celular das linhagens, de acordo com o enantiômero.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo da biologia de compostos de telúrio está em plena expansão, com o desenvolvimento de novos compostos por diferentes grupos de pesquisa mostrando resultados promissores^{42,54,65,72,73,83}, entretanto os compostos inorgânicos de telúrio levam a dianteira em questão de progressos, já tendo sido testados em humanos^{47,87}, enquanto não há relatos na literatura de testes de compostos orgânicos de telúrio em humanos.

Entretanto, sob a perspectiva de solubilidade e estabilidade, os compostos inorgânicos, como o composto mais estudado AS101, são pouco solúveis em soluções salinas, sendo rapidamente hidrolisados em TeOCl_3 ^[88], do mesmo modo que o composto TeCl_4 (Princival et al.⁸⁹ – Artigo submetido para publicação). Já os compostos orgânicos de telúrio apresentam a vantagem de serem mais estáveis e resistentes a hidrólise, mantendo sua integridade molecular mesmo após exposição a temperaturas de 60 a 70 °C⁹⁰. Além disso, dentro da família dos organocalcogênios, os compostos orgânicos de selênio mostraram sinais de decomposição a temperaturas de 37 °C⁹⁰, o que os torna inviáveis para aplicação terapêutica.

Outro aspecto relevante para o estudo dos compostos RF-13R e RF-13S é a questão da isomeria óptica. Aproximadamente metade das drogas atuais apresenta quiralidade, sendo que quase 90% delas são vendidas como soluções racêmicas contendo uma mistura equimolar dos dois enantiômeros⁹¹. As drogas podem apresentar diferenças farmacodinâmicas e farmacocinéticas entre as duas formas enantioméricas, como diferença de atividade, absorção, especificidade, entre outras⁹². Em situações extremas, como a tragédia da talidomida de 1961, os efeitos podem ser catastróficos: a talidomida era uma droga usada para o tratamento de náusea em mulheres grávidas, entretanto o tratamento resultou em defeitos congênitos em milhares de crianças⁹³. Posteriormente, descobriu-se que a talidomida é uma solução racêmica – o enantiômero R apresentava os efeitos farmacológicos desejados, entretanto o enantiômero S apresentava efeitos teratogênicos⁹⁴.

Embora não tenhamos encontrado efeitos antagônicos entre os enantiômeros estudados no presente trabalho, pudemos verificar uma diferença em atividade entre os compostos RF-13R e RF-13S, em que o último induzia alterações celulares e genotoxicidade a uma concentração menor que seu enantiômero. Esses resultados permitem que, no futuro, usemos uma solução enantiomérica do composto RF-13S (e não uma solução racêmica) para experimentos em animais e testes clínicos.

Além disso, alguns compostos miméticos de peroxidase (como os compostos de telúrio) têm mostrado seletividade em direção a células tumorais, poupando células saudáveis. Acredita-se que essa seletividade seja derivada de um efeito sensor efetor: a atividade *peroxidase-like* depende da concentração e da natureza dos tióis presentes na célula; ou seja, os compostos agem como antioxidantes enquanto há tióis consumíveis dentro da célula e se tornam letais na ausência deles⁹⁵. Essa atividade seletiva é completamente diferente da atividade dos compostos atualmente usados em quimioterapia, que são drogas continuamente ativas ou “disparadas” que, uma vez ativadas, permanecem continuamente ativas⁹⁶; isso confere uma vantagem muito grande para esses compostos miméticos de glutathione peroxidase, pois seu uso apresentaria teoricamente efeitos colaterais muito mais brandos, tornando-os prósperos objetos de estudo para terapias anticâncer.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS*

1. Stewart BW, Wild CP, editors. World Cancer Report 2014. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, 2014. 630 p.
2. Randolph-Quinney PS, Williams SA, Steyn M, Meyer MR, Smilg JS, Churchill SE, Odes EJ, Augustine T, Tafforeau P, Berger LR. Osteogenic tumour in *Australopithecus sediba*: earliest hominin evidence for neoplastic disease. *S Afr J Sci*. 2016;112(7/8):1-7.
3. Breasted JH. The Edwin Smith surgical papyrus. Chicago, USA: The university of Chicago press, 1980. v. 1. 108 p.
4. Mukherjee S. The emperor of all maladies: a biography of cancer. New York, USA: Scribner Book Company. Edição reprint. 2011. 573 p.
5. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. Molecular biology of the cell. New York, USA: Garland Science. 5ed. 2007. 1268 p.
6. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell*, 2000;100:57-70.
7. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, 2011;144:646-74.
8. Breitbart EW, Greinert R, Volkmer B. Effectiveness of information campaigns. *Prog Biophys Mol Biol*. 2006;92(1):167-72.
9. Fabbrocini G, Triassi M, Mauriello MC, Torre G, Annunziata MC, De Vita V, Pastore F, D'Arco V, Monfrecola G. Epidemiology of skin cancer: role of some environmental factors. *Cancers*, 2010;2:1980-9.
10. American Cancer Society. Cancer facts & figures 2015. Atlanta, USA: American Cancer Society, 2015. 56 p.
11. Clark WH, Elder DE, Guerry D, Epstein MN, Greene MH, Van Horn M. A study of tumor progression: the precursor lesions of superficial spreading and nodular melanoma. *Hum Pathol*. 1984; 15(12):1147-65.
12. Miller AJ, Mihm MC. Melanoma. *N Eng j Med*. 2006;355(1):51-65.
13. Balch CM, Gershenwald JE, Soong SJ, Thompson JF, Atkins MB, Byrd DR, Buzaid AC, Cochran AJ, Coit DG, Ding S, Eggermont AM, Flaherty KT, Cimotty PA, Kirkwood JM, McMasters KM, Mihm MC, Morton DL, Ross MI, Sober AJ, Sondak VK. Final version of 2009 AJCC melanoma staging and classification. *J Clin Oncol*. 2009;27(36):6199-206.
14. Boland GM, Gershenwald JE. Principles of melanoma staging. In: Kaufman HL, Mehnert JM (editors). Melanoma. Cancer treatment and research. New York, USA: Springer, 2016. Vol. 167. 416p
15. Haass NK, Smalley KS, Li L, Herlyn M. Adhesion, migration and communication in melanocytes and melanoma. *Pigment cell res*. 2005;18(3):150-9.
16. Wang JX, Fukunaga-Kalabis M, Herlyn M. Crosstalk in skin: melanocytes, keratinocytes, stem cells, and melanoma. *J Cell Commun Signal*. 2016;10:190-6.

* De acordo com:

International Committee of Medical Journal Editors. [Internet]. Uniform requirements for manuscripts submitted to Biomedical Journal: sample references. [updated 2011 Jul 15]. Available from: <http://www.icmje.org>

17. Colombo S, Berlin I, Delmas V, Larue L. Classical and nonclassical melanocytes in vertebrates. In: Borovansky J, Riley PA, editors. *Melanins and melanosomes: Biosynthesis, biogenesis, physiological and pathological functions*. New Jersey, USA: Wiley-VCH, 2011. 1 ed. 429 p.
18. Mort RL, Jackson IJ, Patton EE. The melanocyte lineage in development and disease. *Development*. 2015;142:620-32.
19. Virchow RLK. *Cellular pathology*, 1859 special ed., 204–207. London, UK: John Churchill, 1978.
20. Bonaventure J, Domingues MJ, Larue L. Cellular and molecular mechanisms controlling the migration of melanocytes and melanoma cells. *Pigment Cell Melanoma Res*. 2013;26(3):316-23.
21. Pandya P, Orgaz JL, Sanz-Moreno V. Modes of invasion during tumour dissemination. *Mol Oncol*. 2017;11(1):5-27.
22. Lin CM, Lin YL, Ho SY, Chen PR, Tsai YH, Chung CH, Hwang CH, Tsai NM, Tzou SC, Ke CY, Chang J, Chan YL, Wang YS, Chi KH, Liao KW. The inhibitory effect of 7, 7''-dimethoxyagastisflavone on the metastasis of melanoma cells via the suppression of F-actin polymerization. *Oncotarget*, 2016. [epub ahead of print]
23. Wilson MA, Schuchter LM. Chemotherapy for melanoma. In: Kaufman HL, Mehnert JM (editors). *Melanoma. Cancer treatment and research*. New York: Springer, 2016. Vol. 167. 416p
24. Eggermont AMM, Kirkwood JM. Re-evaluating the role of dacarbazine in metastatic melanoma: what have we learned in 30 years? *Eur J Cancer*. 2004;40:1825-36.
25. Curtin JA, Fridlyand J, Kageshita T, Patel HN, Busam KJ, Kutzner H, Cho KH, Aiba S, Bröcker EB, LeBoit PE, Pinkel D, Bastian BC. Distinct sets of genetic alterations in melanoma. *N Engl J Med*. 2005;353(20):2135-47.
26. Lin J, Goto Y, Murata H, Sakaizawa K, Uchiyama A, Saida T, Takata M. Polyclonality of BRAF mutations in primary melanoma and the selection of mutant alleles during progression. *Br J Cancer*. 2011;104(3):464-8.
27. Sensi M, Nicolini G, Petti C, Bersani I, Lozupone F, Molla A, Vegetti C, Nonaka C, Mortarini R, Parmiani G, Fais S, Anichini A. Mutually exclusive NRAS^{Q61R} and BRAF^{V600E} mutations at the single-cell level in the same human melanoma. *Oncogene*, 2006;25:3357-64.
28. Berger MF, Garraway LA. Applications of genomics in melanoma oncogene discovery. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2009;23(3):397-414.
29. Wong DJ, Ribas A. Targeted therapy for melanoma. In: Kaufman HL, Mehnert JM (editors). *Melanoma. Cancer treatment and research*. New York: Springer, 2016. Vol. 167. 416p
30. Wilmott JS, Tembe V, Howle JR, Sharma R, Thomson JF, Rzos H, Lo RS, Keeford RF, Scolyer RA, Long GV. Intratumoral molecular heterogeneity in a BRAF-mutant, BRAF inhibitor-resistant melanoma: a case illustrating the challenges for personalized medicine. *Mol Cancer Ther*. 2012;11(12):2704-8.
31. Davey RJ, Van Der Westhuizen A, Bowden NA. Metastatic melanoma treatment: combining old and new therapies. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2016;98:242-53.
32. Ribas A, Hodi FS, Callahan M, Konto C, Wolchok J. Hepatotoxicity with combination of vemurafenib and ipilimumab. *N Eng J Med*. 2013;368(14):1365-6.

33. Gerhardsson L. Chapter 54 – Tellurium. In: Nordberg GF, Fowler BA, Nordberg M. Handbook on the toxicology of metals. 4th ed. 2015. Vol. 2, p. 1217-28.
34. Mussa Farkhani S, Valizadeh A. Review: three synthesis methods of CdX (X = Se, S or Te) quantum dots. IET Nanobiotechnol. 2014;8(2):59-76.
35. Deng Z, Zhang Y, Yue J, Tang F, Wei Q. Green and orange CdTe quantum dots as effective pH-sensitive fluorescent probes for dual simultaneous and independent detection of viruses. J Phys Chem B. 2007;111:12024-31.
36. Davis CD, Tsuji PA, Milner JA. Selenoproteins and cancer prevention. Annu Rev Nutr. 2012;32:73-95.
37. Moroder L. Isosteric replacement of sulfur with other chalcogens in peptides and proteins. J Peptide Sci. 2005;11:187-214.
38. Irons R, Carlson BA, Hatfield DL, Davis CD. Both selenoproteins and low molecular weight selenocompounds reduce colon cancer risk in mice with genetically impaired selenoprotein expression. J Nutr. 2006;136(5):1311-7.
39. Cunha RL, Gouvea IE, Juliano L. A glimpse on biological activities of tellurium compounds. An Acad Bras Cienc. 2009;81(3):393-407.
40. Mahto SK, Vinod TP, Kim J, Rhee SW. Cytotoxic potentials of tellurium nanowires in BALB/3T3 fibroblast cells. Bull Korean Chem Soc. 2011;32(9):3405-10.
41. Forootanfar H, Amirpour-Rostami S, Jafari M, Forootanfar A, Yousefizadeh Z, Shakibaie M. Microbial-assisted synthesis and evaluation the cytotoxic effect of tellurium nanorods. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl. 2015;49:183-9.
42. Huang W, Wu H, Li X, Chen T. Facile one-pot synthesis of tellurium nanorods as antioxidante and anticancer agents. Chem Asian J. 2016;11(16):2301-11.
43. Ba LA, Döring M, Jamier V, Jacob C. Tellurium: an element with great biological potency and potential. Org Biomol Chem. 2010;8(19):4203-16.
44. Kalechman Y, Albeck M, Oron M, Sobelman D, Gurwith M, Seghal SN, Sredni B. Radioprotective effects of the immunomodulator AS101. J Immunol. 1990;145(5):1512-7.
45. Kalechman Y, Albeck M, Oron M, Sobelman D, Gurwith M, Horwith G, Kirsch T, Maida B, Sehgal SN, Sredni B. Protective and restorative role of AS101 in combination with chemotherapy. Cancer Res. 1991;51(5):1499-503.
46. Sredni B, Albeck M, Kazimirsky G, Shalit F. The immunomodulator AS101 administered orally as a chemoprotective and radioprotective agent. Int J Immunopharmacol. 1992;14(4):613-9.
47. Sredni B, Albeck M, Tichler T, Shani A, Shapira J, Bruderman I, Catane R, Kaufman B, Kalechman Y. Bone marrow-sparing and prevention of alopecia by AS101 in non-small-cell lung cancer patients treated with carboplatin and etoposide. J Clin Oncol. 1995;13(9):2342-53.
48. Rosenblatt-Bin H, Kalechman Y, Vonsover A, Xu RH, Da JP, Shalit F, Huberman M, Klein A, Strassmann G, Albeck M, Sredni B. The immunomodulator AS101 restores T(H1) type of response suppressed by Babesia rodhaini in BALB/c mice. Cell Immunol. 1998;184(1):12-25.

49. Kalechman Y, Gafter U, Da JP, Albeck M, Alarcon-Segovia D, Sredni B. Delay in the onset of systemic lúpus erythematosus following treatment with the immunomodulator AS101: association with IL-10 inhibition and increase in TNF-alpha levels. *J Immunol.* 1997;159(6):2658-67.
50. Kalechman Y, Gafter U, Gal R, Rushkin G, Yan D, Albeck M, Sredni B. Anti-IL-10 therapeutic strategy using the immunomodulator AS101 in protecting mice from sepsis-induced death: dependence on timing of immunomodulating intervention. *J Immunol.* 2002;169:384-92.
51. Sredni B. Immunomodulating tellurium compounds as anti-cancer agents. *Semin Cancer Biol.* 2012;22(1):60-9.
52. Pessoa-Pureur R, Heimfarth L, Rocha JB. Signaling mechanisms and disrupted cytoskeleton in the diphenyl ditelluride neurotoxicity. *Oxid Med Cell Longev.* 2014;2014:1-21.
53. Roy S, Hardej D. Tellurium tetrachloride and diphenyl ditelluride cause cytotoxicity in rat hippocampal astrocytes. *Food Chem Toxicol.* 2011;49(10):2564-74.
54. Vij P, Hardej D. Evaluation of tellurium toxicity in transformed and non-transformed human colon cells. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2012;34(3):768-82.
55. Cunha RL, Urano ME, Chagas JR, Almeida PC, Bincoletto C, Tersariol IL, Comasseto JV. Tellurium-based cysteine protease inhibitors: evaluation of novel organotellurium(IV) compounds as inhibitors of human cathepsin B. *Bioorg Med Chem Lett.* 2005;15(3):755-60.
56. Fry FH, Jacob C. Sensor/effector drug design with potential relevance to cancer. *Curr Pharm Des.* 2006;12(34):4479-99.
57. Piovan L, Alves MF, Juliano L, Brömme D, Cunha RL, Andrade LH. Structure-activity relationships of hypervalent organochalcogenanes as inhibitors of cysteine cathepsins V and S. *Bioorg Med Chem.* 2011;19(6):2009-14.
58. Brohem CA, Massaro RR, Tiago M, Marinho CE, Jasiulionis MG, de Almeida RL, Rivelli DP, Albuquerque RC, de Oliveira TF, de Melo Loureiro AP, Okada S, Soengas MS, de Moraes Barros SB, Maria-Engler SS. Proteasome inhibition and ROS generation by 4-nerolidylcatechol induces melanoma cell death. *Pigmen Cell Melanoma Res.* 2012;25(3):354-69.
59. Rangel M, Malpezzi EL, Susini SM, de Freitas JC. Hemolytic activity in extracts of the diatom *Nitzschia*. *Toxicon.* 1997;35(2):305-9.
60. Leatherbarrow RJ. GraFit. Versão 5.0.12. Horley, UK. Erithacus Software Ltd.; 2001.
61. Schneider CA, Rasband WS, Eliceiri KW. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nat Methods.* 2012;9(7):671-5.
62. GraphPad Prism. Versão 5.00. San Diego, California, USA. Graphpad Software, Inc.; 2007.
63. Dolfini E, Bianchi E, Ubezio P, Volontè M, Fuhrman Conti AM. Genotoxic damage induced by doxorubicin in two human melanoma cell lines. *Cytotechnology.* 1987;1(1):95-7.
64. Fenech M, Chang WP, Kirsch-Volders M, Holland N, Bonassi S, Zeiger E, HUMANMICRONUCLEUS project. HUMN Project: detailed description of the scoring criteria for the human cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures. *Mutat Res.* 2003;534(1-2):65-75.
65. Du P, Saidu NE, Intemann J, Jacob C, Montenarh M. A new tellurium-containing amphiphilic molecule induces apoptosis in HCT116 colon cancer cells. *Biochim Biophys Acta.* 2014;1840(6):1808-16.

66. Manzano JL, Layos L, Bugés C, de Los Llanos Gil M, Vila L, Martínez-Balibrea E, Martínez-Cardús A. Resistant mechanisms to BRAF inhibitors in melanoma. *Ann Transl Med.* 2016;4(12):237.
67. Duan L, Mukherjee EM, Narayan D. Tailoring the treatment of melanoma: implications for personalized medicine. *Yale J Biol Med.* 2015;88(4):389-95.
68. Poh S, Png E, Tong L. Quantitative image analysis of cellular morphology using Amnis® ImageStreamX Mark II imaging flow cytometer: a comparison against conventional methods. *Single Cell Biol.* 2015;S1:001.
69. Dent BM, Ogle LF, O'Donnell RL, Hayes N, Malik U, Curtin NJ, Boddy AV, Plummer ER, Edmondson RJ, Reeves HL, May FE, Jamieson D. High-resolution imaging for the detection and characterization of circulating tumour cells from patients with oesophageal, hepatocellular, thyroid and ovarian cancers. *Int J Cancer.* 2016;138(1):206-16.
70. Stark GR, Taylor WR. Analyzing the G2/M checkpoint. In: Schöntal AH, editor. *Methods in molecular biology: Checkpoint controls and cancer: Volume 1: reviews and model systems.* Totowa, USA: Humana Press Inc. 2004. vol. 280. 318 p..
71. Hayun M, Naor Y, Weil M, Albeck M, Peled A, Don J, Haran-Ghera N, Sredni B. The immunomodulator AS101 induces growth arrest and apoptosis in multiple myeloma: association with the Akt/survivin pathway. *Biochem Pharmacol.* 2006;72(11):1423-31.
72. Naor Y, Hayun M, Sredni B, Don J. Multiple signal transduction pathways are involved in G2/M growth arrest and apoptosis induced by the immunomodulator AS101 in multiple myeloma. *Leuk Lymphoma.* 2013;54(1):160-6.
73. Shaaban S, Sasse F, Burkholz T, Jacob C. Sulfur, selenium and tellurium pseudopeptides: synthesis and biological evaluation. *Bioorg Med Chem.* 2014;22(14):3610-19.
74. Mochizuki M, Kwon YW, Yodoi J, Masutani H. Thioredoxin regulates cell cycle via the ERK1/2-cyclin D1 pathway. *Antioxid Redox Signal.* 2009;11(12):2957-71.
75. McNaughton M, Engman L, Birmingham A, Powis G, Cotgreave IA. Cyclodextrin-derived diorganyl tellurides as glutathione peroxidase mimics and inhibitors of thioredoxin reductase and cancer cell growth. *J Med Chem.* 2004;47:233-9.
76. Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicol Pathol.* 2007;35(4):495-516.
77. Abondanza TS, Oliveira CR, Barbosa CM, Pereira FE, Cunha RL, Caires AC, Comassetto JV, Queiroz ML, Valadares MC, Bincoletto C. Bcl-2 expression and apoptosis induction in human HL60 leukaemic cells treated with a novel organotellurium(IV) compound RT-04. *Food Chem Toxicol.* 2008;46(7):2540-5.
78. Beauvais F, Michel L, Dubertret L. Human eosinophils in culture undergo a striking and rapid shrinkage during apoptosis. Role of K⁺ channels. *J Leukoc Biol.* 1995;57(6):851-5.
79. Liu J, Wang Z. Increased oxidative stress as a selective anticancer therapy. *Oxid Med Cell Longev.* 2015;2015:1-12.
80. Jamier V, Ba LA, Jacob C. Selenium- and tellurium-containing multifunctional redox agentes as biochemical redox modulators with selective cytotoxicity. *Chemistry*, 2010;16(36):10920-8.
81. Schmitt MW, Loeb LA, Salk JJ. The influence of subclonal resistance mutations on targeted cancer therapy. *Nat Rev Clin Oncol.* 2016;13(6):335-47.

82. Giles GI, Tasker KM, Johnson RJ, Jacob C, Peers C, Green KN. Electrochemistry of chalcogen compounds: prediction of antioxidant activity. *Chem Commun (Camb)*. 2001;23:2490-1.
83. Sailer BL, Liles N, Dickerson S, Sumners S, Chasteen TG. Organotellurium compound toxicity in a promyelocytic cell line compared to non-tellurium-containing organic analog. *Toxicol In Vitro*. 2004;18(4):475-82.
84. Barnes D, Sato G. Growth of a human mammary tumour cell line in a serum-free medium. *Nature*, 1979;281:388-9.
85. Tveit KM, Fodstad Ø, Johannessen JV, Olsnes S. A human melanoma cell line established from xenograft in athymic mice. *Br J Cancer*. 1980;41:724-33.
86. Fenech M. A mathematical model of the in vitro micronucleus assay predicts false negative results if micronuclei are not specifically scored in binucleated cells or in cells that have completed one nuclear division. *Mutagenesis*, 2000;15(4):329-36.
87. Sredni B, Shani A, Catane R, Kaufman B, Strassmann G, Albeck M, Kalechman Y. Predominance of TH1 response in tumor-bearing mice and cancer patients treated with AS101. *J Natl Cancer Inst*. 1996;88(18):1276-84.
88. Silberman A, Albeck M, Sredni B, Albeck A. Ligand-substitution reactions of the tellurium compound AS-101 in physiological aqueous and alcoholic solutions. *Inorg Chem*. 2016;17(10):10847-50.
89. Princival CR, Archilha MVL, dos Santos AA, Rodrigues-Oliveira AF, Cunha RLOR, Comassetto JV. A stability study of hypervalent tellurium compounds in aqueous solutions. *Inorg Chem*. 2017 [Artigo submetido para publicação].
90. Silva MS, Andrade LH. ^{77}Se and ^{125}Te NMR spectroscopy on a selectivity study of organochalcogenanes with L-amino acids. *Org Biomol Chem*. 2015;13(21):5924-9.
91. Nguyen LA, He H, Pham-Huy C. Chiral drugs: an overview. *Int J Biomed Sci*. 2006;2(2):85-100.
92. Chhabra N, Aseri ML, Padmanabhan D. A review of drug isomerism and its significance. *Int J Appl Basic Med Res*. 2013;3(1):16-8.
93. Kim JH, Scialli AR. Thalidomide: the tragedy of birth defects and the effective treatment of disease. *Toxicol Sci*. 2011;122(1):1-6.
94. Agranat I, Caner H, Caldwell J. Putting chirality to work: the strategy of chiral switches. *Nat Rev Drug Discov*. 2002;1(10):753-68.
95. Mecklenburg S, Shaaban S, Ba LA, Burkholz T, Schneider T, Diesel B, Kiemer AK, Röseler A, Becker K, Reichrath J, Stark A, Tilgen W, Abbas M, Wessjohann LA, Sasse F, Jacob C. Exploring synthetic avenues for the effective synthesis of selenium- and tellurium-containing multifunctional redox agents. *Org Biomol Chem*. 2009;7(22):4753-62.
96. Giles NM, Gutowski NJ, Giles GI, Jacob C. Redox catalysis as sensitizers towards oxidative stress. *FEBS Lett*. 2003;535(1-3):179-82.