

Daniela Filipa Andrade Guerra

Novos quimioterápicos obtidos a partir de organismos marinhos

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade Ciências da Saúde

Porto, 2015

Daniela Filipa Andrade Guerra

Novos quimioterápicos obtidos a partir de organismos marinhos

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade Ciências da Saúde

Porto, 2015

Daniela Filipa Andrade Guerra

Novos quimioterápicos obtidos a partir de organismos marinhos

Atesto a originalidade do trabalho:

(Daniela Filipa Andrade Guerra)

Trabalho apresentado à Universidade Fernando Pessoa como parte dos requisitos para
obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Porto, 2015

Sumário

O ecossistema marinho é uma fonte de grande biodiversidade. Assim sendo, desde meados do século XX, tornou-se um relevante campo de estudo para muitos investigadores. A exploração do meio aquático permitiu a obtenção de compostos de origem marinha que atuam nas mais variadas áreas tais como antivirais, antineoplásicos e antibacterianos. No entanto, nem todos se encontram comercializados devido à falta de resultados que permitam a sua aprovação. A grande maioria destes produtos está ainda em fase de estudos pré-clínicos e clínicos, apresentando, no entanto, propriedades bastante promissoras.

O cancro é uma doença com grande incidência a nível mundial levando a que a descoberta de novos compostos com propriedades antineoplásicas seja alvo de investigação preferencial. Neste momento, já se encontram aprovados três fármacos derivados de organismos marinhos para o tratamento de vários tipos de cancro, e muitas outras moléculas encontram-se repartidas nas diferentes fases de estudo pré-comercialização.

Este trabalho consiste numa revisão bibliográfica sobre o tema “novos quimioterápicos obtidos de organismos marinhos”, com especial incidência nos compostos antineoplásicos.

Palavras-chave:

Quimioterápico; Produtos naturais marinhos; Organismo marinho; Cancro; antineoplásicos; Mecanismo de ação; Toxicidade; Produtos farmacêuticos marinhos; Tratamento.

Abstract

The marine ecosystem is a source of great biodiversity. Therefore, since the mid of the 20th century, it became a relevant field of study for many researchers. Exploring the aquatic environment provides different compounds of marine origin that can act in several areas such as antiviral, anticancer and antibacterial. Not all have the requirements to be commercialized mainly because there are still insufficient results to support their efficiency. The majority of these products are under study in clinical and preclinical trials presenting, however, very promising properties.

Cancer is a high incidence worldwide disease that has led to the discovery of new compounds with antineoplastic properties that are the subject of prime research. At the moment, there are three drugs derived from marine organisms approved for several cancer treatments with a significant possibility of effective results of many others that are currently under different phases of the premarketing study.

This work consists in a literature review of the topic "new chemotherapy obtained from marine organisms", with a particular focus on anticancer compounds.

Keywords:

Chemotherapeutic; Marine natural products; Marine organisms; Cancer; Antineoplastic; Mechanism of action; Toxicity; Marine pharmaceuticals; Treatment.

Agradecimentos

Aos meus pais que sempre me ensinaram a lutar na vida. Pelas pessoas fantásticas que são, por cada palavra de apoio, carinho e preocupação. Sem eles nada disto seria possível. Um muito obrigada por tudo o que me ensinaram e ajudaram a ser.

À minha irmã, Kika, por todo o companheirismo, dedicação e amizade.

Aos meus avós maternos, pelo seu carinho e preocupação.

À minha família, por todo o apoio.

Um agradecimento muito especial à minha orientadora, Professora Doutora Rita Catarino e à minha coorientadora Professora Doutora Renata Souto, pela disponibilidade prestada, pela ajuda e dedicação ao longo do período de elaboração do trabalho.

Índice

Capítulo I - Introdução	7
Capítulo II – Compostos antineoplásicos derivados de organismos marinhos aprovados pela FDA e/ou EMA	10
1. Contextualização e aplicação farmacológica	10
2. Caracterização, mecanismo de ação e utilidade terapêutica	11
2.1 Esponjas (Poríferas)	11
i. Citarabina (Ara-C).....	13
ii. Mesilato de eribulina (Halaven [®])	14
2.2 Tunicados (subfilo urochordata)	16
i. Trabectedina (ET-743, Yondelis [®]).....	18
Capítulo III – Compostos derivados de organismos marinhos com ação antineoplásica em fase de estudo clínico e pré-clínico	20
1. Contextualização – Ensaios clínicos fase I, II, III e ensaios pré clínicos	20
2. Caracterização e mecanismo de ação de moléculas em ensaios clínicos	21
2.1 Dolastatinas	22
i. Soblidotina (TZT-1027)	24

2.2 Didemnina B	24
i. Plitidepsina (aplidina, Aplidin®)	24
2.3 Plinabulina (NPI-2358)	25
2.4 Kahalalide F (KF)	26
i. Elisidepsina (Irvalec®).....	27
2.5 Zalypsis® (PM00104).....	28
2.6 Marizomib (Salinosporamida A).....	28
2.7 Hemiasterlina (HTI-286).....	29
2.8 Briostatina 1	31
3. Moléculas atualmente em ensaios pré-clínicos (spongistatina 1, discodermolido, ascididemnin B e lamellarin D).....	32
Capítulo IV – Perspetiva futura de produtos naturais marinhos no tratamento do cancro	34
Capítulo V – Conclusão	35
Capítulo VI – Referências bibliográficas	37

Índice de Figuras

Figura 1 - Esponja do mar (porífera).....	11
Figura 2 - Estrutura das poríferas.....	12
Figura 3 - Estrutura molecular citarabina. Adaptado de Mayer et al., 2010.....	13
Figura 4 – Estrutura molecular mesilato de eribulina. Adaptado de Costa-Lotufo et al., 2009..	15
Figura 5 - Estrutura molecular halicondrina b. Adaptado de Beesoo et al., 2014.....	15
Figura 6 - Tunicado marinho.....	16
Figura 7 - Estrutura tunicado marinho.....	17
Figura 8 - Estrutura molecular Trabectedina. Adaptado de Costa-Lotufo et al., 2009.....	18
Figura 9 - Esquema ilustrativo das etapas envolvidas no processo de pesquisa e desenvolvimento de novos fármacos. Retirado de Costa-Lotufo et al., 2009.....	20
Figura 10 - Estrutura molecular Dolastatina 10. Adaptado de Costa-Lotufo et al., 2009.....	22
Figura 11 - Estrutura molecular soblidotina. Adaptado de Costa-Lotufo <i>et al.</i> , 2009.....	23
Figura 12 - Estrutura molecular didemnina B. Adaptado de Beesoo et al., 2014.....	24
Figura 13 - Estrutura molecular aplidina. Adaptado de Costa-Lotufo et al., 2009.....	24
Figura 14 - Estrutura molecular plinabulina. Adaptado de Wang. e Miao, (2013).....	25

Figura 15 - Estrutura molecular kahalalido F. Adaptado de Costa-Lotufo et al., 2009.	26
Figura 16 - Estrutura molecular elisidepsina. Adaptado de Mayer et al., 2010	27
Figura 17 - Estrutura molecular zalypsis [®] . Adaptado de Costa-Lotufo et al., 2009.	28
Figura 18 - Estrutura molecular salanosporamida A. Adaptado de Wang. e Miao, (2013).	29
Figura 19 - Estrutura molecular E7974. Adaptado de Kuznetsov, G. et al., (2009).....	30
Figura 20 - Estrutura molecular HTI-286.....	30
Figura 21 - Estrutura molecular briostatina 1. Adaptado de Costa-Lotufo et al., 2009.	31

Índice de tabelas

Tabela 1 - Compostos derivados de organismos marinhos com ação antineoplásica em fase de estudo clínico (fase I,II e III). Adaptado de Beesoo et al., 2014. 21

Tabela 2 - Compostos derivados marinhos com ação antineoplásica em fase de estudo pré-clínico (Adaptado de Beesoo et al., 2014). 33

Lista de Siglas e Abreviaturas

Ara-C – Citarabina, do inglês *cytarabine*

Ara-CTP – trifosfato de ara-citosina, do inglês *arabinofuranosylcytosine triphosphate*

CDK –desoxicitidina cinase, do inglês *cyclin-dependent kinase*

DNA - ácido desoxirribonucleico, do inglês *deoxyribonucleic acid*

EMA - Agência Europeia do Medicamento, do inglês *European Medicines Agency*

FDA - Administração Federal de Alimentos e Medicamentos do inglês, *Food and Drug Administration*

GTP – guanosina trifosfato, do inglês *guanosine triphosphate*

JNK – Proteína cinase C-Jun N-terminal, do inglês *c-Jun N-terminal protein kinases*

KF – kahalalide F

NSCLC - cancro do pulmão de não-pequenas células, do inglês *Non-small-cell lung cancer*

P38 – proteína cinase p38 ativada por mitógeno, do inglês *p38 mitogen – activated protein kinases*

PKC - proteína quinase C, do inglês *protein kinase C*

VEGF – fator de crescimento endotelial vascular, do inglês *Vascular endothelial growth factor*

Capítulo I - Introdução

O uso de produtos naturais no tratamento de diversas doenças é antigo e sempre constituiu uma das primeiras escolhas por parte do homem. Mesmo com o passar dos anos, esta continua a ser uma das áreas com grande interesse para a ciência. Recorrendo a moléculas sintetizadas pelos seres vivos e aos vários conhecimentos adquiridos ao longo dos tempos, o homem tem conquistado avanços em diversas áreas, como é o caso da química farmacêutica (Costa-Lotufo, *et al.*, 2009).

As doenças oncológicas representam um problema bastante importante de saúde pública a nível mundial. A incidência destas doenças nos países desenvolvidos está a aumentar e ocupa já a segunda posição nas principais causas de mortalidade sendo responsável por mais de 7,6 milhões de mortes por ano, o que equivale a 13% de todas as causas de morte. Várias estimativas sugerem que este ano o número de mortes por cancro atinja os 9,0 milhões e, 11,4 milhões no ano de 2030. Após vários estudos verificou-se que certos produtos naturais podem modelar caminhos apoptóticos nas células neoplásicas humanas, o que leva a que cada vez mais se invista nesta área com a esperança de novas descobertas que levem ao desenvolvimento de novos antineoplásicos (Brandão *et al.*, 2010).

Grande parte da superfície terrestre encontra-se coberta por um dos maiores subsistemas da Terra, a hidrosfera. Dois terços dessa superfície é ocupada por mares e oceanos, representando um dos maiores reservatórios de biodiversidade. Para além disso, o ecossistema marinho acolhe um grande número de organismos vivos o que lhe confere um elevado potencial biotecnológico. Contudo, até aos anos 50, este ecossistema não foi alvo de pesquisa de produtos naturais, principalmente devido ao entrave causado pelas dificuldades de acesso nomeadamente aos organismos que habitam águas mais profunda. Na década de 70, com o progresso das técnicas utilizadas e o aparecimento de equipamentos de mergulho seguros, foi possível dar um grande passo na investigação destes organismos. As algas e os invertebrados foram os representantes primordiais desta área e passaram desde logo a fazer parte de investigações, tanto a nível da química como da farmacologia. Assim, a grande diversidade de organismos marinhos começou a despertar o interesse de muitos investigadores para a identificação de novos produtos

naturais que permitissem desenvolver novas terapias farmacológicas. Desde o início deste século e ainda mais nos dias de hoje observou-se um crescente interesse pelos produtos naturais marinhos, sendo que muitos destes produtos apresenta um elevado potencial no tratamento do cancro (Costa-Lotufo, Wilke *et al.*, 2009).

Revelando a sua capacidade em ensaios pré-clínicos e vários deles em ensaios clínicos, alguns destes produtos, surgem como promissores na terapêutica anticancerígena (Bhatnagar e Kim, 2010). No entanto, algumas destas substâncias naturais apresentam efeitos adversos, como é o caso da citotoxicidade exercida sobre células humanas saudáveis, que impedem a sua integração no mercado.

Sendo uma das áreas com maior investigação na atualidade, os produtos obtidos de organismos marinhos já se encontram representados no mercado do setor farmacêutico. A citarabina e a vidarabina foram os dois primeiros compostos desta área (1974) seguindo-se a trabectedina (2007). No entanto, esta apenas se encontra aprovada pela Agência Europeia do Medicamento (EMA do inglês *European Medicines Agency*). Já em novembro de 2010 foi aprovado um composto derivado da esponja *Halichondria sp*, o mesilato de eribulina. Destes quatro compostos comercializados somente três são utilizados na terapia antineoplásica: a citarabina, destaca-se como inibidor da DNA polimerase no tratamento do cancro; a trabectedina, alcalóide tetrahidroisoquinoloide, é utilizada inicialmente no tratamento do sarcoma dos tecidos moles e, a partir de 2009, aprovado também no tratamento do carcinoma do ovário; e, por último, o mesilato de eribulina que revelou a sua atividade como inibidor de microtúbulos, é usado para o tratamento de cancro da mama metastático (Beedessee *et al.*, 2014; Bhatnagar e Kim, 2010).

Para a realização deste trabalho, foi efetuada uma revisão da literatura obtida com recurso a pesquisas em diversos motores de busca nomeadamente, *PubMed*, *Scielo*, *B-on*, *ScienceDirect* e *Google Académico*. De modo a tornar a pesquisa mais específica foram utilizadas palavras-chave, introduzidas em língua inglesa, sobre o tema (*Chemotherapeutic; Marine natural products; Marine organisms; Cancer; Antineoplastic; Mechanism of action; Toxicity; Marine pharmaceuticals; Treatment*). Foi ainda realizada uma pesquisa com recurso a livros científicos e médicos obtidos nas

bibliotecas de várias faculdades da Universidade do Porto. O período de realização desta pesquisa foi entre os meses de setembro de 2014 e fevereiro de 2015.

A motivação para a escolha deste estudo deve-se especialmente, ao contributo que este tema que tanto marca a atualidade possa vir a ter na minha carreira como Farmacêutica e também no desenvolvimento do setor farmacêutico.

Capítulo II – Compostos antineoplásicos derivados de organismos marinhos aprovados pela FDA e/ou EMA

1. Contextualização e aplicação farmacológica

O oceano cobre mais de 70% da superfície terrestre e é o habitat de um conjunto de organismos que vive num ambiente altamente competitivo, Estes organismos evoluíram ao longo de milhões de anos e são fundamentais na diversidade genética e na obtenção de metabolitos (Vinothkumar and Parameswaran, 2013).

A importância dos organismos marinhos para a pesquisa de novos quimioterápicos está associada ao facto de existirem algumas características e propriedades benéficas como a sua baixa dosagem, maior seletividade para os tecidos malignos e a relativa não vulnerabilidade para o desenvolvimento de resistência, quando comparados com os compostos de origem terrestre, tornando-se por isso moléculas bastante úteis (Beesoo *et al.*, 2014)

Em contraste com o habitat terrestre, os habitats marinhos têm sido pouco explorados quanto à capacidade farmacológica dos compostos que podem ser extraídos a partir deles. Durante as últimas décadas este ecossistema tem sido alvo de grandes pesquisas no sentido de encontrar novas pistas o desenvolvimento de fármacos inovadores.

Estes compostos que são biologicamente ativos apresentam diferentes graus de ação, nomeadamente, anticancerígena, antiviral, citotóxica, bem como propriedades antibióticas. A maior parte das formas de invertebrados no ambiente marinho, tais como as esponjas, algas, tunicados, briozoários, moluscos têm, por isso, sido investigados ao longo das últimas décadas, pelo seu elevado potencial (Bhatnagar e Kim, 2010).

2. Caracterização, mecanismo de ação e utilidade terapêutica

As estruturas e atividade quimioterápica de compostos naturais isolados dos principais organismos marinhos são de interesse fundamental para a farmacologia atual.

2.1 Esponjas (Poríferas)

As esponjas do mar (filo porífera) (Figura 1) surgem em águas bastante profundas. Estes organismos são sésseis marinhos filtradores e desenvolveram-se para permitir e/ou modular a comunicação celular e defesa contra invasores, tais como os vírus, as bactérias ou outros organismos eucarióticos. (Laport *et al.*, 2009)



Figura 1 - Esponja do mar (porífera).

Adaptado de <http://losanimalesinvertebradosjuanluis.blogspot.pt/2012/05/los-poriferos-y-los-celentereos-los.html>.

As esponjas são os organismos marinhos com maior percentagem de compostos farmacologicamente ativos e, são geralmente, produzidos através de conjuntos de enzimas funcionais. A sua diversidade química é bastante significativa, isto porque para além dos nucleósidos pouco comuns, os terpenos bioativos, péptidos, alcaloides, ácidos gordos, peróxidos e derivados de aminoácidos, a sua própria aparência contribuiu para o desenvolvimento de um sistema de defesa química avançada. A presença de diversos metabolitos secundários que foram identificados em esponjas marinhas em associação

com a complexidade dos compostos e as suas vias biossintéticas, são uma indicação importante para a sobrevivência (Sagar *et al.*, 2010).

Cada vez mais os microrganismos infecciosos desenvolvem resistências a fármacos já existentes, o que torna as esponjas um microrganismo com elevado potencial contra as infecções bacterianas, fúngicas e virais (Sagar *et al.*, 2010).

As células da porífera não são diferenciadas da mesma forma que os outros metazoários, não possuem órgãos internos ou sistema nervoso e, por esta razão, são considerados parazoários. A porífera na sua expressão mais simples (Figura 2), apresenta-se como um corpo cilíndrico, reto e provido de uma cavidade central que se designa por “paragáster”, bem como de uma abertura exalante no topo, designada de “ósculo”.

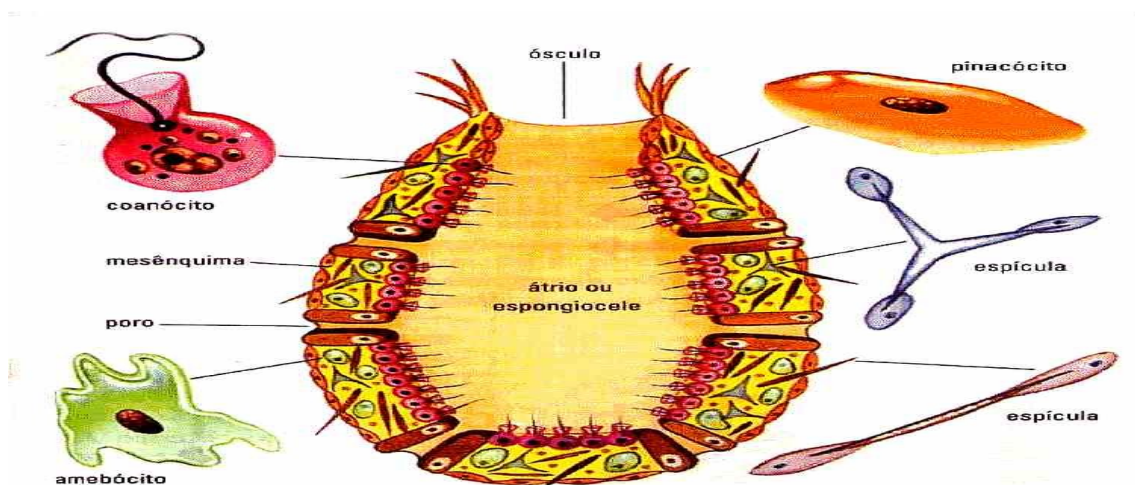


Figura 2 - Estrutura das poríferas.

Adaptado de <http://essaseoutras.xpg.uol.com.br/poriferos-resumo-estruturas-caracteristicas-das-esponjas-reproducao/>.

A parede da porífera apresenta duas camadas de células, uma interna (endoderme) e uma externa (ectoderme), que envolve outra camada de consistência essencialmente, gelatinosa designada de mesogleia ou mesênquima. Para além destas camadas, a parede da porífera é perfurada por vários poros de dimensões bastante reduzidas.

A citarabina e o mesilato de eribulina são atualmente os únicos compostos antineoplásicos comercializados e extraídos de esponjas marinhas.

i. Citarabina (Ara-C)

A citarabina (Figura 3) é um nucleosídeo desenvolvido a partir de uma molécula quimicamente similar a spongotimidina, que foi isolada a partir de uma esponja do mar das Caraíbas, a *Tethya crypta*. Este composto (Ara-C) foi o primeiro derivado marinho aprovado como agente antineoplásico, logo a partir dos anos 70. Segundo uma pesquisa efetuada este composto apresenta grande relevância no tratamento desta doença possuindo mais de 13 mil artigos referenciados só no *PubMed* (Mayer *et al.* 2010).

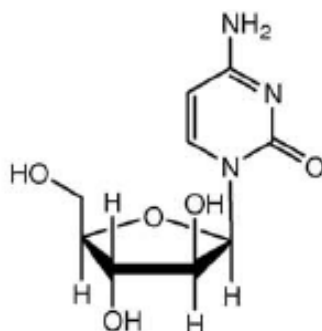


Figura 3 - Estrutura molecular citarabina.
Adaptado de Mayer *et al.*, 2010

Sendo um nucleosídeo pirimidínico sintético, no ciclo celular comporta-se como um agente citotóxico, mais precisamente um antimetabólico específico de fase S com uma potente ação imunossupressora. Ao ser administrada por via intravenosa, a citarabina é bio-ativada por fosforilações em trifosfato de ara-citosina (ara-CTP). O ara-CTP compete intracelularmente com o substrato fisiológico de desoxicidina trifosfato de onde resulta a inibição da DNA polimerase. Ao inibir esta enzima, irá resultar uma consequente inibição da síntese de DNA. O efeito citotóxico deste fármaco é altamente influenciado pela incorporação da citosina arabinose trifosfato na cadeia de DNA.

Para que este mecanismo ocorra é necessária a acumulação de ara-CTP que por sua vez depende de vários processos, nomeadamente, o transporte na membrana (visto que a entrada da citarabina se encontra dependente da ajuda de um carregador) e conversão de ara-C a ara-CTP. Mais concretamente, esta conversão dá-se quando o fármaco é convertido para a sua forma ativa através da conversão para o nucleótido 5'-monofosfato (ara-CMP) através da enzima desoxicitidina cinase (CDK). Por sua vez, o Ara-CMP reagirá com nucleótidos cinases para que se formem nucleótidos de difosfato (ara-CDP) e trifosfato (ara-CTP). (Mayer *et al.* 2010; Brunton *et al.*, 2007).

Aprovada pela Administração Federal de Alimentos e Medicamentos (FDA) no ano de 1969, a citarabina encontra-se disponível em duas formas farmacêuticas: citarabina convencional (Cytosar-U[®]) e citarabina lipossomal (Depocyt[®]). A forma convencional está indicada para o tratamento da leucemia linfocítica aguda ou linfoblástica aguda, no tratamento da leucemia mieloide aguda, não linfocítica aguda ou mieloide crónica (fase blástica) e no tratamento da leucemia meníngea. Já a utilização da forma lipossomal encontra-se direcionada para o tratamento intratecal da meningite linfomatosa (Mayer *et al.*, 2010).

ii. Mesilato de eribulina (Halaven[®])

O cancro da mama é o cancro com maior taxa de incidência nas mulheres em Portugal, sendo previsível que no futuro 1 em cada 11 mulheres irá desenvolver este tipo de cancro. Este panorama verifica-se igualmente a nível mundial. Só nos Estados Unidos no ano de 2010 foram registados 207,090 novos casos de cancro da mama, dos quais 39,840 resultaram em mortes. Prevê-se que aproximadamente 20% das mulheres às quais foi diagnosticado cancro da mama venham a desenvolver cancro metastático da mama. Contudo, a taxa de mortalidade associada a este tipo de cancro tem diminuído devido a um diagnóstico mais precoce e à descoberta de novos tratamentos.

O mesilato de eribulina (Figura 4) é um análogo sintético com uma estrutura química simplificada da halicondrina B (Figura 5) (isolada a partir da esponja marinha *Halichondria okadai*). O mesilato de eribulina é um composto macrocíclico que apesar de apresentar uma estrutura mais simples do que a molécula de halicondrina B,

consegue manter as propriedades biológicas promissoras do composto inicial, apresentando simultaneamente propriedades farmacêuticas mais favoráveis como a solubilidade em água e a estabilidade química. Quando comparado com outros fármacos antineoplásicos de mecanismos de ação semelhantes, revela uma neurotoxicidade menor e menos frequente (Beesoo *et al.*, 2014).

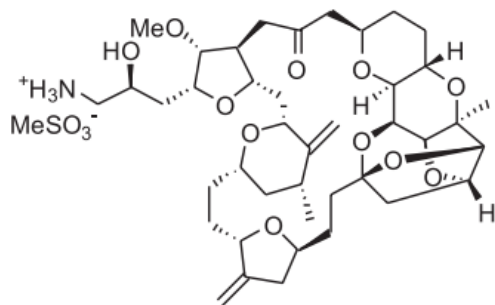


Figura 4 – Estrutura molecular mesilato de eribulina. Adaptado de Costa-Lotufo *et al.*, 2009.

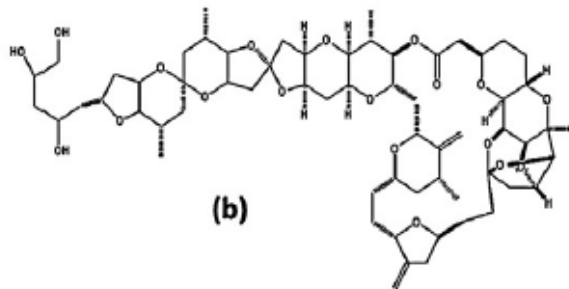


Figura 5 - Estrutura molecular halicondrina b. Adaptado de Beesoo *et al.*, 2014

O mesilato de eribulina, tal como os taxanos e os alcaloides da vinca, atua como antineoplásico de fase M, interferindo assim, com a dinâmica dos microtúbulos mas com um mecanismo de ação diferente. Ao inibir a fase de crescimento dos microtúbulos, o mesilato de eribulina leva ao bloqueio do ciclo celular, ruptura dos fusos mitóticos levando à morte celular por apoptose (McBride e Butler, 2012). Esta molécula apresenta atividade mesmo em linhagens de células em que existe uma sobreexpressão de glicoproteína-P e nas que se mostram resistentes aos taxanos devido a mutações na β -tubulina (Sawadogo, W. R. *et al.*, 2015)

O Halaven[®] foi aprovado pela FDA em 2010 para o tratamento de pacientes com cancro da mama metastático ou localmente avançado que tenha apresentado progressão após pelo menos dois tratamentos quimioterápicos. Estes tratamentos prévios, deviam ter incluído uma antraciclina e um taxano a não ser que existisse alguma incompatibilidade por parte do doente para com algum destes tratamentos (Dybdal-Hargreaves *et al.*, 2015).

A aprovação do Halaven[®] é fundamentada pelos resultados obtidos num estudo clínico de fase III realizado em doentes com cancro da mama metastático que anteriormente tinham recebido uma média de 4 tratamentos quimioterápicos, incluindo uma antraciclina e um taxano. Este estudo denominado de EMBRACE permitiu comparar a sobrevida global de pacientes tratados com Halaven[®] com a sobrevida de pacientes tratados com outros tratamentos convencionais. O tratamento convencional variava entre quimioterapia, tratamento hormonal, uma terapia biológica aprovada para o tratamento do cancro, um tratamento paliativo ou radioterapia. Este estudo revelou resultados bastantes positivos para a terapêutica com Halaven[®] verificando-se um aumento medianos de 2,5 meses na sobrevida destes pacientes comparando com os pacientes sujeitos a qualquer outro tratamento escolhido (Dybdal-Hargreaves *et al.*, 2015).

Contudo, os ensaios clínicos com este fármaco têm continuado. Ainda na atualidade estão a ser realizados vários estudos de modo a ser possível a sua utilização no tratamento de outros tipos de cancro, como por exemplo ovários, próstata e pulmão (Dybdal-Hargreaves *et al.*, 2015).

2.2 Tunicados (subfilo urochordata)

Os tunicados (Figura 6), subfilo Urochordata, representam cerca de 1250 espécies de animais marinhos. Habitualmente a maioria das espécies encontram-se em águas pouco profundas mas podem também ser encontradas a grandes profundidades.



Figura 6 - Tunicado marinho.

Adaptado de
<http://www.brasilreef.com/viewtopic.php?f=2&t=8776>.

Os tunicados obtêm alimento através dos cílios que se encontram alinhados na sua faringe. Através do movimento dos cílios é formada uma corrente de água que entra na faringe e permite capturar as partículas microscópicas através da mucosa.

Inicialmente, os tunicados apresentam a forma de larvas que possuem características básicas. No entanto essas características são alteradas (Figura 7) assim que a larva tenha vida livre. Nessa altura, a larva fixa-se verticalmente a uma rocha ou superfície dura e ocorrem uma série de alterações morfológicas (metamorfose), desaparecendo a maioria das estruturas iniciais. Assim, parte da cauda da larva é absorvida e a outra parte é perdida, a corda dorsal, o tubo neural e os músculos são retraídos para o corpo e absorvidos. Relativamente ao sistema nervoso, o gânglio nervoso continua a existir. As fendas branquiais (ou fendas faríngeas) aumentam desenvolvendo várias aberturas e sendo invadida por vasos sanguíneos. O estômago e os intestinos aumentam o seu tamanho e formam-se as gónadas entre estes dois. Por fim, as glândulas adesivas presentes na larva desaparecem e o corpo do organismo fica todo coberto por uma túnica.



Figura 7 - Estrutura tunicado marinho.

Adaptado de
<<http://www.alunosonline.com.br/biologia/urocordados.html>>.

i. Trabectedina (ET-743, Yondelis®)

A trabectedina (Figura 8), alcaloide tetrahydroisoquinoloide, isolado da *Ecteinascidia turbinata*, um tunicado marinho encontrado nos mares das Caraíbas, representou um marco significativo na descoberta de mais um fármaco. Atualmente, de modo a fazer uma utilização racional daquilo que este ecossistema nos fornece, a trabectedina é obtida por síntese química a partir da cianosafracina B, proveniente da cultura da bactéria *Pseudomonas fluorescens* (Beesoo *et al.*, 2014).

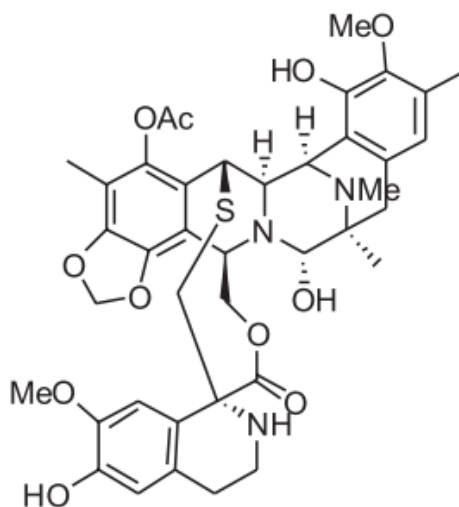


Figura 8 - Estrutura molecular Trabectedina.
Adaptado de Costa-Lotufo *et al.*, 2009.

Relativamente à sua estrutura química, a trabectedina, é formada por 3 anéis de tetrahydroisoquinoloides fundidos. No entanto, o seu mecanismo de ação ainda não se encontra totalmente esclarecido. Sabe-se que a trabectedina se liga através de ligações covalentes reversíveis ao DNA, mais precisamente à guanina, no sulco menor da dupla hélice, causando um dobramento da hélice para o sulco maior. Este facto desencadeia uma cascata de acontecimentos que são refletidos na desorganização do citoesqueleto, interferência no reconhecimento e ligação de fatores de transcrição, proteínas de ligação ao DNA (nomeadamente, ligações proteicas do sistema de nucleótido de excisão e reparação) e vias de reparação do DNA, advindo assim uma perturbação do ciclo celular (D'Incalci *et al.*, 2014).

A trabectedina, também revela uma das suas capacidades mais importantes ao inibir a transcrição do gene MDR1 que é responsável pela produção da glicoproteína-P. Esta glicoproteína quando presente ao nível das membranas celulares das células tumorais é responsável pelo bombeamento de diversos quimioterápicos para o seu exterior, conferindo-lhes resistência a diversos fármacos. Assim sendo, o tratamento com trabectedina pode ser um importante auxiliar na terapia antineoplásica (Costa-Lotufo *et al.*, 2009).

No entanto, os primeiros ensaios clínicos demonstraram que a molécula apresentava elevada toxicidade pelo que se tornou necessário a realização de estudos que permitissem entender as reações relacionadas com a toxicidade e um ajuste da dose. Atualmente, relativamente ao perfil de segurança, os efeitos adversos mais frequente com o uso da trabectedina são a neutropenia e o aumento dos valores das transaminases (Costa-Lotufo *et al.*, 2009).

Após vários anos de investigação e diversos ensaios clínicos, a trabectedina passou a ser o anticancerígeno derivado marinho aprovado na União Europeia para o tratamento de pacientes com sarcoma dos tecidos moles e pacientes com cancro dos ovários recidivante (sensíveis à platina) (Costa-Lotufo *et al.*, 2009).

No entanto, os estudos relativamente ao potencial deste composto continuaram e atualmente já estão a decorrer ensaios clínicos de fase II direcionando o seu tratamento no cancro da mama, pulmão e próstata. Em ensaios clínicos de fase III está a ser estudada a possibilidade de utilização deste composto como tratamento de primeira linha no sarcoma dos tecidos moles. Para além disto, a utilização combinada da trabectedina com doxorrubicina, paclitaxel ou irinotecano demonstrou um efeito sinérgico que pode vir a ser bastante promissor na terapia antineoplásica de sarcomas (Beesoo *et al.*, 2014).

Capítulo III – Compostos derivados de organismos marinhos com ação antineoplásica em fase de estudo clínico e pré-clínico

1. Contextualização – Ensaio clínico fase I, II, III e ensaios pré clínicos

O ecossistema marinho continua todos os anos a fornecer diversos compostos que promovem o progresso do setor farmacêutico. Apesar do número diminuído de fármacos aprovados pela FDA e pela EMA, existem diversas substâncias químicas repartidas em várias fases de ensaios clínicos e centenas ou até mesmo milhares em ensaios pré-clínicos. De facto, o processo de estudo de substâncias derivadas de compostos marinhos é bastante complexo envolvendo várias etapas (Figura 9). Estatisticamente, das 5000 substâncias que iniciam um estudo pré-clínico, apenas 5 passam aos ensaios clínicos e apenas 1 irá resultar num fármaco com aplicação clínica (Costa-Lotufo *et al.*, 2009).



Figura 9 - Esquema ilustrativo das etapas envolvidas no processo de pesquisa e desenvolvimento de novos fármacos. Retirado de Costa-Lotufo *et al.*, 2009.

No entanto, até mesmo aquelas substâncias que após os ensaios clínicos não obtiveram aprovação contribuíram positivamente para a evolução das investigações através da avaliação da relação estrutura e atividade farmacológica de forma a tentar otimizar o seu perfil farmacocinético e farmacodinâmico, para que se possa ultrapassar os efeitos colaterais associados à sua toxicidade (Mayer *et al.*, 2010).

2. Caracterização e mecanismo de ação de moléculas em ensaios clínicos

A Tabela 1 pretende compilar os vários compostos de origem marinha que se encontram em fase de estudo clínico e que apresentam atividade citostática.

Tabela 1 - Compostos derivados de organismos marinhos com ação antineoplásica em fase de estudo clínico (fase I,II e III). Adaptado de Beesoo *et al.*, 2014.

Composto	Organismo marinho	Classe química	Alvo Molecular	Estado clínico	Referências
Soblidotina (TZT-1027)	Molusco	Péptido	Tubulina	Fase III	[3,6,21]
Plitidepsina (Aplidina)	Tunicado	Depsipeptídeo cíclico	VEGF/VEGF-r1	Fase II	[3,6]
Plinabulina (NPI-2358)	Fungo	Discetopiperazina	Tubulina	Fase II	[3,17]
Elisidepsina	Molusco	Depsipeptídeo	Lisossomas	Fase II	[3,27,28]
Zalypsis[®] (PM00104)	Molusco	Alcaloide	DNA	Fase II	[3,23]
Marizomib (NPI-0052)	Bactéria	β -lactona	Proteassoma 20S	Fase I	[3,12]
Hemiasterlina (HTI-286)	Esponja marinha	Tripéptido	Tubulina	Fase I	[3,13]
Briostatina 1	Briozoário	Policetídeo	Proteína quinase C	Fase I	[3,29]

2.1 Dolastatinas

Produzidas por cianobactérias consumidas por um molusco do Oceano Pacífico, as dolastatinas são reconhecidas pelo seu poder citotóxico elevado. Dentro deste grupo de péptidos, a dolastatina 10 (Figura 10) foi aquela que alcançou maior destaque pela sua notável atividade contra várias linhas celulares de cancro, nomeadamente, no cancro da mama, pulmão, leucemias e linfomas (Costa-Lotufo *et al.*, 2009).

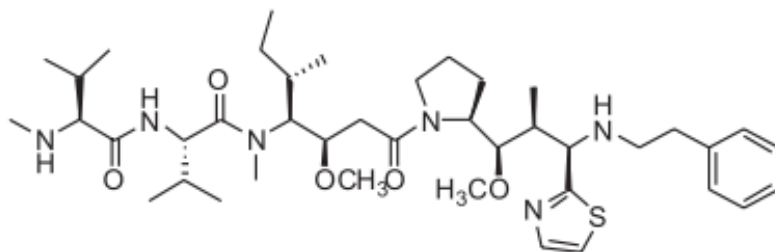


Figura 10 - Estrutura molecular Dolastatina 10.
Adaptado de Costa-Lotufo *et al.*, 2009.

Sendo um agente antimetabólico potente, a dolastatina 10 atua através de um mecanismo de inibição não competitiva ligando-se à tubulina. Esta ligação irá afetar, tanto a formação dos microtúbulos como a hidrólise da guanosina trifosfato (GTP) dependente da tubulina. Devido ao seu mecanismo de indução de apoptose, este pentapéptido ingressou rapidamente em ensaios clínicos de fase I e II. No entanto, embora a toxicidade tenha sido tolerada nas doses administradas, estes ensaios falharam devido à ausência de resultados significativos contra o cancro da próstata. Contudo, a dolastatina 10, contribuiu positivamente para pesquisas futuras e permitiu o aparecimento do seu análogo sintético, a soblidotina (TZZ-1027) (Beesoo *et al.*, 2014; Liu *et al.*, 2014)

i. Soblidotina (TZZ-1027)

A soblidotina (Figura 11) é um análogo sintético da dolastatina 10 e foi formulada de forma a manter a potente atividade antineoplásica e baixa toxicidade da molécula que lhe deu origem. Relativamente ao mecanismo de ação, a soblidotina atua de igual forma através da ligação à tubulina com consequente inibição da polimerização da mesma (Costa-Lotufo *et al.*, 2009).

2.2 Didemnina B

A didemnina B (Figura 12) (depsipeptídeo cíclico), isolada a partir do tunicado *Trididemnum solidum*, foi a primeira substância natural marinha a ingressar em ensaios clínicos e a exibir tanto a sua atividade antiviral como a sua atividade citotóxica contra vários modelos tumorais sólidos. Após revelar através de teste *in vitro* a sua capacidade contra vários tipos de cancros (como por exemplo, cancro de próstata e linfoma), a didemnina B avançou para teste pré-clínicos e testes clínicos (fase I e II) logo no início dos anos 80. No entanto, este composto veio a demonstra ser bastante tóxico o que levou a sua suspensão em meados dos anos 90, impedindo-o de prosseguir para ensaios clínicos de fase III. Apesar dessa interrupção, os estudos clínicos revelaram-se bastantes vantajosos e permitiram o desenvolvimento de um análogo simples da didemnina B, designado de plitidepsina (aplidina) (Figura 13) (Beesoo *et al.*, 2014).

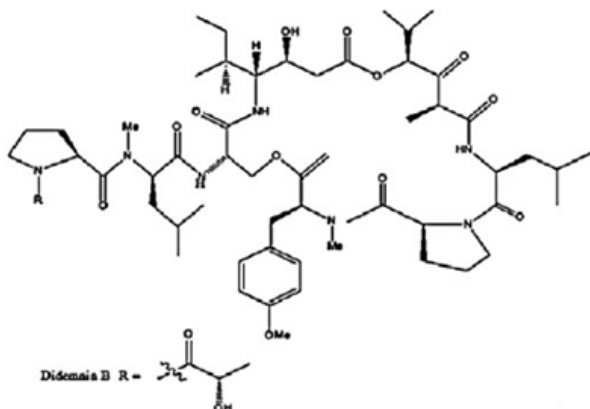


Figura 12 - Estrutura molecular didemnina B. Adaptado de Beesoo *et al.*, 2014.

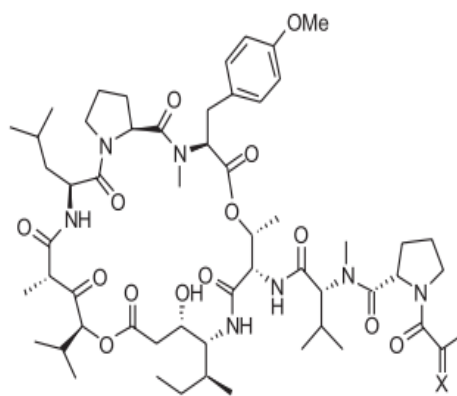


Figura 13 - Estrutura molecular aplidina. Adaptado de Costa-Lotufo *et al.*, 2009.

i. Plitidepsina (aplidina, Aplidin®)

A aplidina é um depsipeptídeo cíclico análogo da didemnina B (isolado a partir do tunicado mediterrâneo *Aplidium albicans*) (Beesoo *et al.*, 2014).

A aplidina tem revelado o seu forte potencial através de estudos e ensaios realizados. Foi realizado um estudo com uma série de 42 didemninas análogas e sintéticas incluindo a didemnina B, no qual se relacionava a estrutura e a atividade antiviral e citotóxica das moléculas. A aplidina demonstrou ser a mais ativa. Através de modelos *in vivo*, esta substância conseguiu uma grande redução do tamanho de tumores (alguns dos quais resistentes a didemnina B) ao mesmo tempo que se verificava uma menor toxicidade associada ao seu uso (Costa-Lotufo *et al.*, 2009).

Mecanicamente, a aplidina inibe a síntese de DNA e de proteínas levando a um consequente bloqueio da divisão celular e enfraquecimento da angiogénese tumoral através da diminuição da secreção de fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e da expressão do recetor VEGF-r1. De um modo geral, a aplidina induz a apoptose rápida e persistentemente através de diversas vias, nomeadamente através da indução do stress oxidativo que induz uma apoptose mediada pela via mitocondrial e através da ativação das cinases p38 e JNK responsáveis pela regulação da apoptose. O tratamento feito com este composto tem sido bem tolerado e através da coadministração de L-carnitina pode ser contrabalançado aquele que era o maior fator limitante a esta terapia, a toxicidade neuromuscular (Calle, 2007).

Clinicamente, a aplidina demonstrou resultados bastante promissores. Em dois ensaios de fase II, este composto revelou a sua atividade em múltiplos mielomas refratários e linfoma das células T (Beesoo *et al.*, 2014).

2.3 Plinabulina (NPI-2358)

A plinabulina (Figura 14) é uma dicetopiperazina sintética obtida a partir da halimida, uma substância natural isolada da *streptomyces sp.* de origem marinha (Luo *et al.*, 2015).

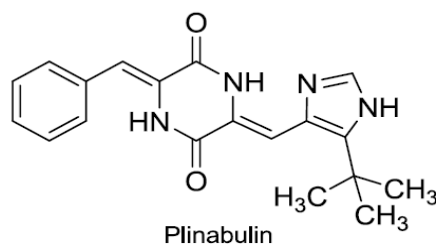


Figura 14 - Estrutura molecular plinabulina.
Adaptado de Wang. e Miao, (2013).

Um estudo realizado *in vivo* com a plinabulina demonstrou que esta apresenta maior seletividade para células endoteliais imaturas em proliferação, que são responsáveis pela neovascularização essencial para o suprimento do sangue dos tumores sólidos (Costa-Lotufo *et al.*, 2009).

A plinabulina liga-se numa região entre a α e a β -tubulina impedindo a polimerização, sem, contudo, interferir com a dinâmica dos microtúbulos já formados. Assim que a polimerização é bloqueada, poucos minutos após a exposição à substância, ocorre um rápido colapso e oclusão da teia vascular tumoral após a adesão e polimerização das células do endotélio imaturas. Por fim, devido a falta de nutrição, as células tumorais acabam por ser levadas a morte por necrose. A plinabulina encontra-se em ensaios clínicos de fase II para o tratamento de tumores sólidos e linfomas (Costa-Lotufo *et al.*, 2009; Mayer *et al.* 2010).

2.4 Kahalalide F (KF)

O kahalalide F (Figura 15) é um depsipeptídeo cíclico natural originalmente isolado a partir do molusco herbívoro sacoglossos havaiano *Elysia rufescens* e, mais tarde, isolado a partir de uma alga verde, *Bryopsis pennata*, presente na alimentação do mesmo. O KF é o peptídeo que demonstra ser o mais ativo num conjunto de 13 peptídeos também isolados deste molusco (Sevora *et al.*, 2013; Shah *et al.*, 2014).

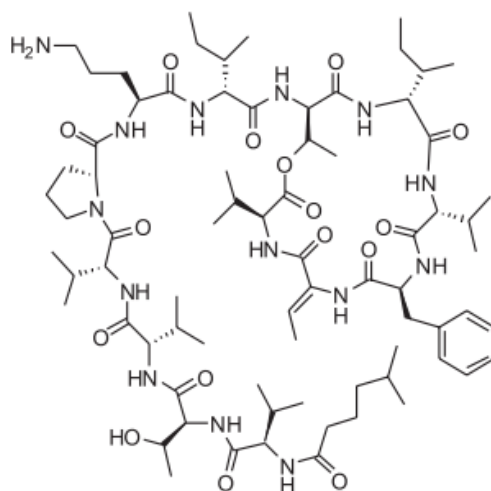


Figura 15 - Estrutura molecular kahalalido F.
Adaptado de Costa-Lotufo *et al.*, 2009.

Através do tratamento de células tumorais com este composto, foi possível observar uma alteração ao nível das membranas dos lisossomas e dos vacúolos das células, ocorrendo turgescência da célula. O mecanismo de ação do KF assenta na capacidade de alterar a função basal da membrana dos lisossomas, induzindo a morte celular por oncose (Sevora *et al.*, 2013; Shah *et al.*, 2014).

Através da realização de testes pré-clínicos, o KF demonstrou a sua atividade contra diferentes tumores sólidos humanos, nomeadamente cancro do pulmão de não-pequenas células (NSCLC), cancro da próstata, mama, ovários e carcinomas do cólon (Sevora *et al.*, 2013; Calle, 2007).

i. **Elisidepsina (Irvalec[®])**

A elisidepsina (Figura 16) é um peptídeo cíclico análogo sintético do kahalalide F que ao demonstrar *in vivo* a sua atividade em tumores de xenoenxertos humanos e perfil toxicológico aceitável foi escolhido para desenvolvimento (Beesoo *et al.*, 2014).

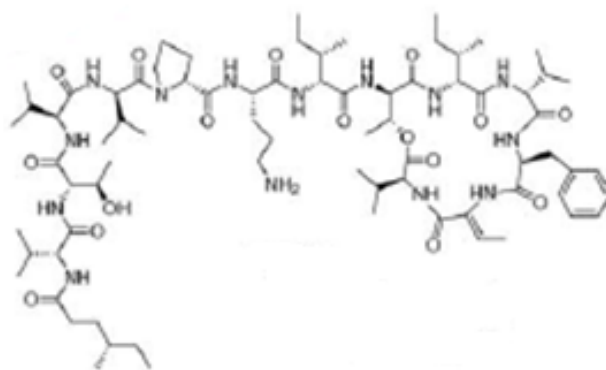


Figura 16 - Estrutura molecular elisidepsina.
Adaptado de Mayer *et al.*, 2010

Atualmente está a ser estudado em ensaios clínicos de fase II pela sua atividade anticancerígena e índice terapêutico favorável para tumores sólidos, tais como, melanoma, NSCLC e carcinoma hepatocelular (Beesoo *et al.*, 2014).

2.5 Zalypsis[®] (PM00104)

O zalypsis[®] (Figura 17) é um alcaloide isoquinolínico sintético, estruturalmente semelhante a outros alcaloides isolados de bactérias, esponjas marinhas e tunicados (por exemplo, trabectedina). Inicialmente este composto demonstrou elevada atividade *in vitro* elevada atividade como agente quimioterápico e, mais tarde, em testes *in vivo* contra vários tumores humanos. Mais recentemente, o Zalypsis[®] evoluiu para ensaios clínicos de fase II para o tratamento antineoplásico do sarcoma de Ewing, cancro urotelial (cancro da bexiga), mieloma múltiplo e cancro do colo do útero (Petek and Jones, 2014).

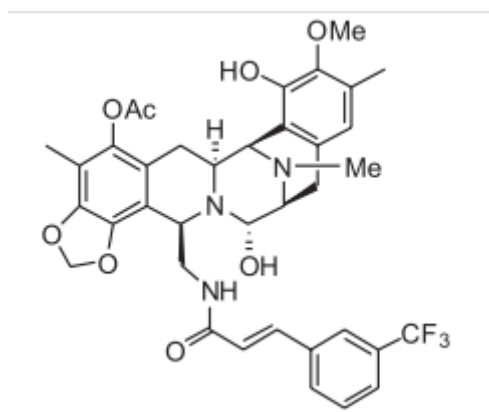


Figura 17 - Estrutura molecular zalypsis[®].
Adaptado de Costa-Lotufu *et al.*, 2009.

O mecanismo de acção do zalypsis[®] assenta na ligação da molécula ao sulco menor do DNA inibindo as fases iniciais da transcrição e causando quebras na cadeia dupla. Afeta o ciclo celular através da sua paragem na fase S, seguido de morte celular por apoptose. A forma como este composto inibe a proliferação celular fez aumentar ainda mais o seu interesse clínico (Petek e Jones, 2014).

2.6 Marizomib (Salinosporamida A)

A salanosporamida A (Figura 18) é um dos mais recentes candidatos a futuros fármacos pelo elevado potencial já demonstrado. Isolado da bactéria marinha *salinispora tropica*, a salanosporamida A distingue-se de todos os outros compostos com mecanismos de ação semelhantes pelo seu anel bicíclico β -lactone- γ -lactam (Gerwick and Moore, 2012).

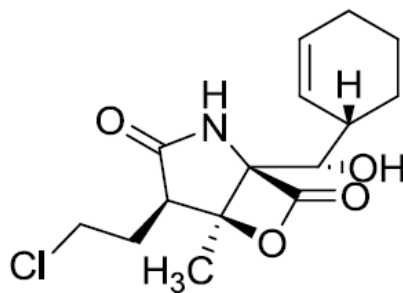


Figura 18 - Estrutura molecular salanosporamida A.
Adaptado de Wang. e Miao, (2013).

A salanosporamida A apresenta uma seletividade e elevada potência na inibição do proteassoma 20S, um complexo enzimático multicatalítico responsável pela degradação de proteínas não-lisossomais em células, e como tal apresenta-se como uma mais valia para o tratamento do cancro (Gerwick e Moore, 2012).

Diversos estudos realizados, demonstraram o potencial da salanosporamida A em combinação com outros produtos biológicos e outros quimioterápicos o que impulsionou o início de ensaios clínicos de fase I simultaneamente em pacientes com mieloma múltiplo, linfomas, leucemias e tumores sólidos. A salanosporamida A também se encontra em ensaios clínicos de fase I para o tratamento de mielomas múltiplos recorrentes e está comercializada sob o nome de marizomib (Gerwick and Moore, 2012; Mayer *et al.* 2010).

2.7 Hemiasterlina (HTI-286)

A hemiasterlina é um tripeptídeo citotóxico potente, que foi isolado a partir de esponjas marinhas. Este composto exerce os seus efeitos anti-proliferativos por ligação à tubulina, impedindo a sua polimerização e consequentemente inibindo o ciclo mitótico. No entanto, *in vivo* a eficácia terapêutica de hemiasterlina está associada a alguma toxicidade contra linhas celulares cultivadas. Assim, em termos de química medicinal os análogos da hemiasterlina são mais promissores ao desenvolvimento de melhores efeitos terapêuticos (Kuznetsov, 2009; Niewerth *et al.*, 2014).

O E7974 (Figura 19), um análogo da hemiasterlina, demonstra *in vivo* uma forte eficácia anticancerígena em diversos tipos de cancro de humanos, incluindo modelos tumorais resistentes ao paclitaxel. Para caracterizar o mecanismo anticancerígeno deste composto, estudou-se os seus efeitos sobre a distribuição do ciclo celular de células tumorais humanas em cultura, a formação de fusos mitóticos, e a indução de apoptose. Alguns estudos demonstraram que o E7974 perturba a formação do fuso mitótico, bloqueando as células na fase M do ciclo celular após tempos de exposição curtos, e induz uma bloqueio mitótico de longa duração que irá provocar a apoptose. Com base nestes resultados pré-clínicos favoráveis, o E7974 foi selecionado para testes clínicos em humanos, e está atualmente na fase I de ensaios clínicos (Kuznetsov, 2009; Niewerth *et al.*, 2014).

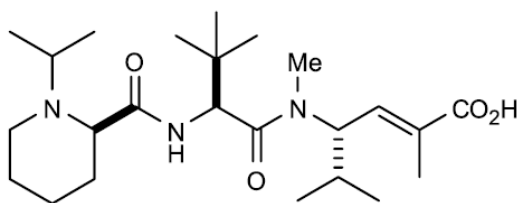


Figura 19 - Estrutura molecular E7974.
Adaptado de Kuznetsov, G. *et al.*, (2009).

Já o análogo HTI-286 (Figura 20), demonstrou ser eficaz contra modelos celulares resistentes a vários quimioterápicos incluindo taxanos e alcaloides da vinca. Estudos pré-clínicos permitiram concluir que este composto causa regressão de tumores e inibição de crescimento de xenoinxertos humanos em ratos. Outro resultado bastante promissor deste composto foi a reação à inibição pelo HTI-286 provocada em células que expressam glicoproteína-P ou que são resistentes ao paclitaxel (Beesoo *et al.*, 2014).

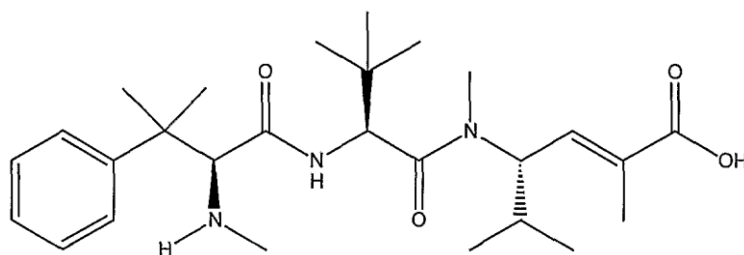


Figura 20 - Estrutura molecular HTI-286.

Adaptado de
<http://www.google.com/patents/WO2004048527A2?cl=en>.

2.8 Briostatina 1

A briostatina 1 (Figura 21) é uma lactona macrolítica isolada a partir do briozoário *Bugula neritina* e apresenta-se como a molécula mais promissora da sua família. Atualmente, o grande interesse pelo estudo deste composto encontra-se focado no seu elevado potencial como quimioterápico. No entanto, este apresenta outros aspetos a seu favor como é o caso da sua capacidade para a regulação da apoptose, o efeito sinérgico com outros quimioterápicos antineoplásicos e a sua capacidade para estimular o sistema imunológico (Costa-Lotufu *et al.*, 2009).

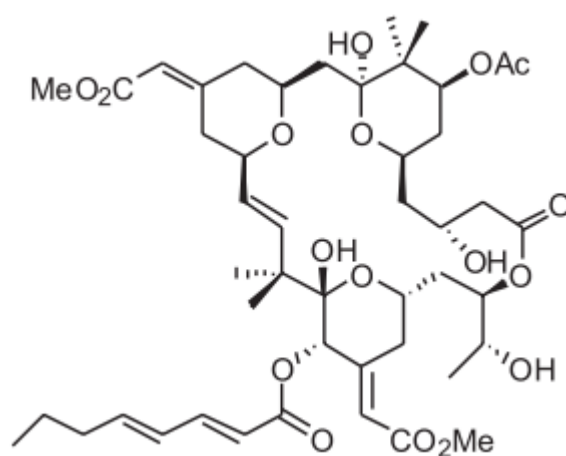


Figura 21 - Estrutura molecular briostatina 1.
Adaptado de Costa-Lotufu *et al.*, 2009.

A briostatina 1 liga-se a proteína quinase C (PKC) com elevada afinidade, induz a libertação de citocina e expande a população de linfócitos contra tumores específicos. Para além disso, a briostatina 1 têm apresentado melhores resultados em terapias associadas do que em monoterapias, supondo-se que o seu efeito modelador da PKC venha a favorecer o efeito sinérgico com outros quimioterápicos e acentuar o seu efeito contra tumores. Assim, já foram feitas várias associações com este composto que revelaram resultados clínicos positivos, nomeadamente, em associação com alcaloides da vinca ou Ara-C contra leucemias em estudos de fase I e na associação com fludarabina em leucemia linfocítica crónica e linfoma não-Hodgkin. Por último, foram também encontrados efeitos positivos em estudos de fase II em associação com paclitaxel em pacientes com NSCLC. No entanto, este estudo encontra-se incompleto uma vez que esta associação não revelou resposta clínica significativa e ainda se verificou toxicidade associada (Winegarden. *et al.*, 2002). A briostatina 1 tem sido

estudada tanto individualmente como em tratamentos combinados com outros fármacos através de ensaios clínicos (fase I e fase II) para leucemia mieloide, melanoma, leucemia linfocitária, linfoma não Hodgkin, NSCL, mieloma metastático, linfoma recorrente e leucemia linfocitária crônica (Beesoo *et al.*, 2014) (Costa-Lotufo *et al.*, 2009) (Mayer *et al.* 2010).

Relativamente a toxicidade da briostatina 1, a mialgia é o único efeito colateral detetado mas na maioria das vezes pode ser tratada através dos tratamentos convencionais (Costa-Lotufo *et al.*, 2009).

3. Moléculas atualmente em ensaios pré-clínicos (spongistatina 1, discodermolido, ascididemnin B e lamellarin D)

Os estudos pré-clínicos representam um passo primordial na descoberta e investigação de novos fármacos. O seu principal objetivo centra-se na avaliação farmacológica em sistemas *in vitro* e em animais *in vivo* para que se possa obter o maior número de conhecimentos acerca das suas propriedades e dos efeitos colaterais do composto em estudo (Ferreira *et al.*, 2009).

É também avaliada a cinética do novo candidato a fármaco no organismo de animais. Esses estudos são realizados por meio da administração de doses deste novo composto e sua posterior monitoração destes no organismo do animal. Para isso, são realizadas colheitas programadas de sangue e urina, para determinação de concentrações plasmáticas do composto e metabolitos gerados e eliminados pela urina (Range *et al.*, 2008).

A spongistatina 1, o discodermolido, a ascididemnin B e o lamellarin D são quatro dos compostos candidatos a fármacos que se encontram em fase pré-clínica e cuja sua ação terapêutica está direcionada para o tratamento de vários tipos de cancros (Beesoo *et al.*, 2014).

Tabela 2 - Compostos derivados marinhos com ação antineoplásica em fase de estudo pré-clínico (Adaptado de Beesoo et al., 2014).

Composto	Organismo marinho	Classe química	Alvo Molecular
Spongistatina 1	Esponja marinha	Macrolído	Tubulina
Discodermolido	Esponja marinha	Policetídeo	Tubulina
Ascididemnin B	Tunicado	Alcaloide	Mitocôndria
Lamellarin D	Molusco e corais	Alcaloide	Topoisomerase

Assim, é de notar que os compostos naturais marinhos em estudo pré-clínico constituem uma nova esperança para o tratamento de doenças.

Capítulo IV – Perspetiva futura de produtos naturais marinhos no tratamento do cancro

O elevado potencial biológico, bioquímico e biossintético dos organismos marinhos faz com que os mares e oceanos sejam indicados como uma fonte para o estudo do metabolismo secundário dos seres vivos que nele habitam. Uma parte destes seres vivos apresenta um potencial praticamente ilimitado para a descoberta e extração de novos compostos, o que contribui para o destaque deste ecossistema como a mais ampla fonte para a descoberta de novos agentes terapêuticos (Costa-Lotufo, *et al.*, 2009).

Na última década, o ambiente marinho tem sido explorado com o intuito de descobrir novas linhas condutoras a novos anticancerígenos. Cada vez mais os investigadores procuram métodos alternativos para aceder a uma nova variedade de produtos com propriedades benéficas para o tratamento do cancro (Beesoo *et al.*, 2014).

É necessário fazer um uso racional deste ecossistema e como tal, a forma para obter quantidades suficientes dos produtos derivados marinhos para aplicação clínica continua a ser o fator limitante a esta exploração. A síntese dos compostos bioativos marinhos, por vezes, é a alternativa. No entanto, a elevada complexidade de certos compostos não torna este método viável (Beesoo *et al.*, 2014).

Outra alternativa para a obtenção destes produtos, que tem revelado resultados bastante promissores em relação a compostos anticancerígenos, é a aquacultura dos organismos de origem, como é o caso de esponjas marinhas, tunicados, com o intuito de fornecerem quantidades regulares de produto. Contudo, em alguns casos, a quantidade obtida é ainda bastante insuficiente (Beesoo *et al.*, 2014).

Sendo assim, e de forma a ultrapassar os obstáculos que ainda impedem a exploração desta área, as novas tecnologias e os conhecimentos dos vários cientistas irão ser fundamentais para permitir o sucesso futuro destes produtos como agentes terapêuticos que irão marcar a diferença no tratamento do cancro e de outras doenças.

Capítulo V – Conclusão

Cerca de 70% da superfície terrestre é coberta pelo oceano que representa a fonte com maior diversidade química e biológica. Ao longo dos anos, os avanços tecnológicos permitiram a exploração deste ecossistema e a indústria farmacêutica começou a explorá-los com o intuito de descobrir compostos bioativos com atividade farmacológica para o tratamento de várias doenças humanas, nomeadamente antineoplásicos.

O cancro é um dos maiores problemas de saúde pública sendo, por isso, alvo de especial atenção pela comunidade médica e científica a nível mundial. A taxa de mortalidade por cancro tem vindo a aumentar e, caso não sejam tomadas medidas, estima-se que em 2020 existam, 10,3 milhões de óbitos devido a este problema.

De modo a contrariar esta realidade, as investigações de compostos marinho já permitiu a aprovação para comercialização de 3 compostos com ação antineoplásica. Assim, o primeiro composto aprovado pela FDA foi a citarabina (Cytosar-U[®] e Depocyt[®]) usada no tratamento de leucemias. Passado vários anos, foram aprovados mais dois fármacos antineoplásicos, a trabectedina e o mesilato de eribulina.

Apesar do número reduzido de fármacos de origem marinha aprovados, existem vários compostos derivados marinhos repartidos entre ensaios pré-clínicos e ensaios clínicos de fase (I,II e III) sendo que muitos deles se encontram direcionados para o tratamento do cancro.

Neste presente trabalho, foram discutidas as características dos vários produtos derivados marinhos com ação antineoplásica. Foi possível verificar também que apesar de ser uma área bastante explorada e com características promissoras para o futuro ainda existem muitos pontos a ser ajustados de modo a diminuir a toxicidade, os efeitos colaterais e as dificuldades que muitas vezes surgem na síntese e obtenção de muitas das moléculas que se encontram em ensaios clínicos. A investigação constante que está a ser feita nos vários estudos aos produtos derivados marinhos é um ponto de partida para a descoberta de novas possibilidades. As mudanças farmacodinâmicas induzidas per estes

compostos nas células cancerígenas humanas podem fornecer informações para se perceber a base genética que está na base da resposta/resistência a estes compostos, possibilitando assim o desenvolvimento de terapias personalizadas de acordo com a resposta que foi dada.

Com a evolução da tecnologia e com o contributo de todas as investigações que estão em curso espera-se, que em breve, contribuições terapêuticas importantes do ecossistema marinho possam vir a ser reveladas e colocadas em prática no tratamento de várias doenças humanas incluindo o cancro.

Capítulo VI – Referências bibliográficas

- [1] Bhatnagar, I. e Kim S. K., (2010). Marine antitumor drugs: status, shortfalls and strategies. *Mar Drugs*, 8(10), pp. 2702-2720.
- [2] Beedessee, G., Ramanjooloo, A., Marie, D. E. P., (2015). Marine natural products research in mauritius: progress and challenges. *Marine chemistry*. 170, pp. 23-28.
- [3] Beesoo, R., Neergheen-Bgujan V., Bhagooli R., Bahorun T., (2014). Apoptosis inducing lead compounds isolated from marine organisms of potential relevance in cancer treatment. *Mutation research*, 768, pp. 84-97.
- [4] Brandão, H. N., David J. P., Couto R. D., Nascimento J. A. P., David J. M. (2010). Química e farmacologia de quimioterápicos antineoplásicos derivados de plantas. *Química Nova*, 33, pp. 1359-1369.
- [5] Brunton, L. L., Lazo, J. S., and Parker, K.L. (2007). *Goodman & Gilman's – The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 1ª edição. Editora McGraw-Hill.
- [6] Calle, F. (2007). Fármacos de origen marino. *Treballs de la SCB*, 58, pp. 141-155.
- [7] Costa-Lotufo, L. V. *et al.*, (2009). Organismos marinhos como fonte de novos fármacos: histórico & perspectivas. *Química Nova*, 32, pp. 703-716.
- [8] D'Incalci, M., *et al* (2014). Trabectedin, a drug acting on both cancer cells and the tumour microenvironment. *British Journal of Cancer*, 111, pp. 646-650.

- [9] Dybdal-Hargreaves, N. F., Risinger, A. L., Mooberry, S. L. (2015). Eribulin Mesylate: Mechanism of Action of a Unique Microtubule-Targeting Agent. *American Association for Cancer Research Journals*, 21, pp. 2445-2452.
- [10] Ferreira, F. G., Polli, M. C., Oshima-Franco, Y., Fraceto, L. F., (2009). Fármacos: do desenvolvimento à retirada do mercado. *Revista Eletrônica de Farmácia. Goiás*, 6(1), pp. 14-24.
- [11] Gerber, H., Senter, P. D., Grewal, L. S., (2009). Antibody drug-conjugates targeting the tumor vasculature. *Landes bioscience*, 1(3), pp. 247-253.
- [12] Gerwick, W. H., Moore, B. S. (2012). Lessons from the past and charting the future of marine natural products drug discovery and chemical biology. *Chemistry & Biology*, 19, pp. 85-98
- [13] Kuznetsov, G. et al., (2009). Tubulin-based antimitotic mechanism of E7974, a novel analogue of the marine sponge natural product hemiasterlin. *Molecular cancer Therapeutics*, 8(10), pp.2852-2862.
- [14] Laço. [Em linha]. Disponível em <<http://www.laco.pt/cancro-mama/estatisticas>>. [Consultado em 1/9/2015].
- [15] Laport, M.S., Santos D. C., Muricy G., (2009). Marine sponges: potential sources of new antimicrobial drugs. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 10, pp. 86-105.
- [16] Liu, Z. et al., (2014). Microtubule-targeting anticancer agents from marine natural substance. *Anti-cancer agents in medicinal chemistry*, 14, pp. 1-9.
- [17] Luo, M. et al. (2015). A new diketopiperazine derivative from a deep sea-derived *Streptomyces sp.* SCSIO 04496. *Natural product research*, pp 1-6.

[18] Mayer, A. M. S. Marine Pharmacology – Clinical Development; Disponível em <http://marinepharmacology.midwestern.edu/clinPipeline.htm>. Consultado em 09/08/2015

[19] Mayer, A. M., *et al.*, (2010). The odyssey of marine pharmaceuticals: a current pipeline perspective. *Trends Pharmacol Sci*, 31(6), pp. 255-265.

[20] McBride, A., Butler, S. K. (2012). Eribulin mesylate: A novel halichondrin B analogue for the treatment of metastatic breast cancer. *American Journal of Health-System Pharmacy*, 69, pp. 745-755.

[21] Natsume, T., *et al* (2000). Characterization of the interaction of TZT-1027, a potent antitumor agent, with tubulin. *Japanese journal of cancer research*, 91, pp. 737-747.

[22] Niewerth, D., *et al.* (2014). Antileukemic activity and mechanism of drug resistance to the marine *salinispora tropica* proteasome inhibitor salinosporamide A (Marizomib). *Molecular pharmacology*, 86, pp. 12-19.

[23] Petek, B. J., Jones, R. L. (2014). PM00104 (Zalypsis®): A Marine Derived Alkylating Agent. *Molecules*, 19, pp. 12328-12335.

[24] Rang, H. P., Dale, M. M., Ritter, J. M., Flower, R. J., (2008). *Farmacologia*. 6ª edição. Rio de Janeiro, Elsevier Editora.

[25] Sagar, S., Kaur M., Minneman K.P., (2010). Antiviral lead compounds from marine sponges. *Marine drugs*, 8, pp. 2619-2638.

[26] Sawadogo, W. R., *et al.*, (2015). A survey of marine natural compounds and their derivatives with anti-cancer activity reported in 2012. *Molecules*, 20, pp.7097-7142.

[27] Shah, P. P., *et al.*, (2014). Effect of combination of hydrophilic and lipophilic permeation enhancers on the skin permeation of kahalalide F. *Journal of pharmacy and pharmacology*, 66, pp. 760-768.

[28] Serova, M. *et al.* (2013). Predictive factors of sensitivity to elisidepsin, a novel kahalalide F-derived marine compound. *Marine drugs*, 11, pp. 944-959.

[29] Wang, Y. e Miao, Z., (2013). Marine-derived angiogenesis inhibitors for cancer therapy. *Marine drugs*, 11, pp.903-933.

[30] Winegarden, J. D. *et al.*, (2002). A phase II study of bryostatin-1 and paclitaxel in patients with advanced non-small cell lung cancer. *Lung cancer*, 39, pp.191-196.