

Ana Filipa Oliveira Vieira Gonçalves da Silva

ANTINEOPLÁSICOS DERIVADOS DO MAR



Universidade Fernando Pessoa
Faculdade de Ciências da Saúde

Porto, 2018

ANTINEOPLÁSICOS DERIVADOS DO MAR

Atesto a originalidade do trabalho

(Ana Filipa Oliveira Vieira Gonçalves da Silva)

Trabalho apresentado à Universidade Fernando Pessoa como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas, sob a orientação da Professora Doutora Adriana Pimenta e coorientação da Professora Doutora Rita Catarino.

RESUMO

Nos últimos anos, verificou-se um aumento dos estudos relativos aos organismos marinhos do mar permitindo a identificação de diversas substâncias sintetizadas por estes. Desde meados do século XX, que ecossistema marinho revelou uma vasta biodiversidade de compostos e conseqüente um elevado potencial a nível da investigação científica que aliado ao desenvolvimento tecnológico é um alvo de interesse para a indústria farmacêutica, nomeadamente no âmbito da terapia oncológica.

Atualmente, as terapias mais utilizadas para o tratamento do cancro compreendem a cirurgia, a radioterapia e a quimioterapia. É no âmbito da quimioterapia que os compostos derivados do mar se enquadram a partir das suas propriedades citotóxicas. Estes geralmente apresentam um mecanismo de ação que inviabilizam as células cancerígenas, ou inibem substâncias endógenas essenciais à proliferação celular.

A presente dissertação procura abordar determinados compostos derivados do mar com aplicação na terapia oncológica. Embora alguns destes compostos já tenham sido aprovados pelas entidades reguladoras do medicamento, outros continuam a integrar os ensaios clínicos com vista a comprovar a sua eficácia e segurança, bem como no reconhecimento de possíveis associações com outros fármacos, de modo a obter efeitos sinérgicos.

Palavras-chave: cancro, mar, compostos anti-tumorais derivados do mar, metabolitos derivados do mar.

ABSTRACT

In recent years there has been an increase in studies of marine organisms, allowing the identification of various substances synthesized by these organisms. Since the mid-twentieth century, the marine ecosystem has revealed a vast biodiversity of compounds and consequently a high potential in scientific research, which together with technological development is a target of interest for the pharmaceutical industry, particularly in the field of cancer therapy.

Currently, the most commonly used therapies for cancer treatment include surgery, radiotherapy, and chemotherapy. It is within the scope of chemotherapy that the compounds derived from the sea are framed from their cytotoxic properties. These usually have a mechanism of action that render cancer cells unviable, or inhibit endogenous substances essential for cell proliferation.

The present dissertation tries to approach certain compounds derived from the sea with application in cancer therapy. Although some of these compounds have already been approved by the drug regulatory authorities, others continue to integrate clinical trials to prove their efficacy and safety, as well as recognition of possible combinations with other drugs, in order to achieve synergistic effects.

Keywords: cancer, sea, anti-tumor compounds derived from the sea, metabolites derived from the sea.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar aqui o meu agradecimento a todos os que sentiram a minha ausência durante esta caminhada de 6 anos. Especialmente a minha pequena família, o meu marido e a minha filha, com uma palavra de reconhecimento á minha pequena Maria João, que certamente foi quem mais sentiu a minha falta.

Um agradecimento especial à Professora Doutora Adriana Pimenta e à Professora Doutora Rita Catarino, pela orientação, dedicação, paciência e disponibilidade que tiveram para com este trabalho.

Agradeço também aos meus pais, à minha irmã, familiares e amigos por toda a força e apoio que sempre demonstraram.

A todos, que estiveram sempre comigo, muito obrigado!

INDICE GERAL

Resumo	i
Abstract	ii
Agradecimentos	iii
Índice de figuras	v
Índice de tabelas	vi
Lista de abreviaturas	vi
I. INTRODUÇÃO	1
1.1. Objetivos	5
1.2. Metodologia	5
II. QUIMIOTERAPIA ANTINEOPLÁSICA	7
III. ANTINEOPLÁSICOS DERIVADOS DO MAR	10
3.1. Fármacos antineoplásicos derivados do mar aprovados na terapêutica ... 14	
3.1.1. Citarabina.....	15
3.1.2. Trabectedina.....	16
3.1.3. Eribulina.....	22
3.1.4. Brentuximab vedotin.....	24
3.2. Fármacos antineoplásicos derivados do mar atualmente em estudos clínicos	29
3.2.1. Em ensaios clínicos de fase III	29
i. Plitidepsina.....	29
ii. Plinabulina.....	32
iii. Lurbinectedina.....	34
3.2.2. Em ensaios clínicos de fase II	36
i. Glembatumumab vedotin.....	36
ii. Plocabulina.....	38
3.2.3. Em ensaios clínicos de fase I	40
i. Marizomib (salanisporamida A).....	40
ii. Briostatina 1.....	41
iii. Frondoside A.....	42
CONCLUSÃO	44
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Fases do ciclo celular	8
Figura 2. Classificação dos agentes antineoplásicos com base na sua fase de atuação no ciclo celular.....	9
Figura 3. Estrutura química da citarabina (Ara- C).....	16
Figura 4. Estrutura química da trabectedina.....	17
Figura 5. Interação da trabectedina com a enzima RNA Polimerase II e posterior degradação da enzima e quebra da síntese de ADN.....	19
Figura 6. Estrutura química numerada da eribulina..	22
Figura 7. Estrutura química da halicondrina B, da qual deriva a eribulina, com estrutura destacada a cor diferente.....	23
Figura 8. Estrutura química do brentuximab vedotin (ADC), na qual se destaca o MAB (anticorpo monoclonal) e o Vedotin (que consiste nos outros quatro grupos que formam o ADC).	25
Figura 9. Estrutura química da dolostatina 10, com local de substituição de grupos ativos para formar MMAE (monometil auristatina E) e MMAF (monometil auristatina F). ...	26
Figura 10. Mecanismo de ação do anticorpo monoclonal brentuximab vedotin conjugado com o péptido monometil-auristatina E (MMAE).	28
Figura 11. Estrutura química da plitidepsina (Aplidin®).....	30
Figura 12. Mecanismo de ação da plitidepsina.	31
Figura 13. Estrutura química da plinabulina (NPI-2358).	33
Figura 14. Mecanismo de ação da plinabulina..	33
Figura 15. Estrutura química da lurbinectedina..	35
Figura 16. Mecanismo de ação da lurbinectedina..	36
Figura 17. Estrutura química da glembatumumab vedotin (CDX-011).	37
Figura 18. Estrutura química da monometil auristatina E (MMAE).	38
Figura 19. Estrutura química dos PM050489 e PM060184.	39
Figura 20. Estrutura química da plocabulina.....	40
Figura 21. Estrutura química da marizomib (salanisporamida A).	41
Figura 22. Estrutura química da briostatina 1..	42
Figura 23. Estrutura química do frondoside A..	43

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Compostos derivados do mar usados na terapêutica e em fase de investigação.....	12
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS

ACS - *American Cancer Society*

ADC - *Antibody Drug Conjugate*

ADN - *Ácido desoxirribonucleico*

AIPC - *Agência Internacional para Pesquisa em cancro*

Ara-CTP - *Citarabina-5'-trifosfato*

AVD - *Adriamicina, Vinblastina e Dacarbazina*

BRAC-2 - *Breast Cancer susceptibility gene 2*

BRCA1/2 - *Breast cancer type 1/2 susceptibility protein*

CA4 - *Combretastatina A-4*

CAT - *Chloramphenicol Acetyltransferase Gene*

CD30 - *Proteína transmembranar*

CDX-011 - *Glembatumumab vedotin*

CHMP - *Comité dos Medicamentos para Uso Humano, do inglês Committee for Medicinal Products for Human Use*

c-JNK - *Cinase N-terminal c-Jun*

Dap - *Dolaprolina*

Dil - *Dolaisoleucína*

Doe - *Dolafenina*

Dov - *Dolavalina*

eEF1A2 - *Sub-unidade Alfa do Factor de Elongação eucariótico, do inglês Eukaryotic Elongation Factor 1 A-2*

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

EPAR - *Resumo do Relatório Público Europeu de Avaliação destinado ao público, do inglês European public assesement reports*

EUA - *Estados Unidos da América*

FDA - *Food and Drugs Administration*

GPNMB - *Glicoproteína transmembranar NMB*

GSH - *Glutationa*

HUVECs - *Células endoteliais da veia umbilical humana*

KRAS - *Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog*

LAGC - *Linfoma anaplásico das grandes células*

LLC - *Leucemia linfocítica crónica*

MDR - Resistência a múltiplos fármacos
MMAD - Monometil auristatina-D
MMAE - Monometil auristatina E
MMAF - Monometil auristatina F
NPI-0052 - Marizomib
NPI-2350 - Halimida
NPI-2358 - Plinabulina
OMS - Organização Mundial de Saúde
PAK1 - *p21-activated kinase 1*
PFS - Sobrevida livre de progressão
PKC - Proteína quinase C
PM01183 - Lurbinectedina
RNA - Ácido ribonucleico, do inglês *Ribonucleic Acid*
TC-NER - *Transcription Coupled Nucleotide Excision Repair*
TNBC - Cancro da mama triplo negativo
TNF - Recetor de necrose tumoral
Val - Valina
VEGF - Fator de crescimento endotelial vascular

I. INTRODUÇÃO

O cancro é uma das principais causas de morte em todo o mundo, em todos os países e de todos os níveis de desenvolvimento (Torre *et al*, 2015). A adicionar a este facto, é esperado que o número de casos e de mortes venha a crescer rapidamente nos próximos anos devido ao crescimento e ao envelhecimento da população e à adoção de estilos de vida propensos ao aumento do risco de cancro.

A informação compilada pela Agência Internacional para Pesquisa em Cancro (AIPC) da Organização Mundial de Saúde (OMS) revela, a partir da sua base de dados, que em 2012 foi estimado terem surgido 14,1 milhões de novos casos de cancro e 8,2 milhões de mortes causadas por cancro em todo o mundo (Torre *et al*, 2015). O cancro do pulmão e da mama são os tipos de cancros mais frequentemente diagnosticados e as principais causas de morte por cancro em homens e mulheres, respetivamente, tanto nos países mais desenvolvidos como nos países menos desenvolvidos (Torre *et al*, 2015).

Anualmente, a *American Cancer Society* (ACS) faz a estimativa do número de novos casos de cancro e de mortes por cancro que irão ocorrer nos Estado Unidos da América (EUA) e compila os dados mais recentes sobre incidência, mortalidade e sobrevivência a estas doenças oncológicas. Em 2017 a ACS estimava que ocorressem 600920 mortes por cancro e 1,688 780 novos casos de cancro nos EUA (Siegel *et al*, 2017).

Apesar das estatísticas, segundo dados de 2016 da ACS, o número de doentes que sobrevive ao cancro, continua a aumentar, porque se consegue detetar os tumores de forma mais precoce e pelo próprio o tratamento. Esta estatística é realizada nos EUA por forma a estimar o número de atuais e futuros casos de sobreviventes a cancro, para que a Saúde Pública possa apoiar da melhor forma estes doentes que têm que viver a longo prazo com os efeitos adversos do tratamento, assim como, com as sequelas fisiológicas e socioeconómicas (Miller *et al*,2016). Assim, à medida que a incidência e a prevalência de cancro aumentam, o mesmo acontece com o número de pacientes que têm que viver com o cancro como condição crónica. Os pacientes com cancro avançado (por exemplo, localmente avançado ou cancro metastático incurável) também vivem mais tempo do que

em décadas anteriores (Salakari *et al*, 2015). Por este motivo, a necessidade de reabilitação entre pacientes com câncros avançados aumentará. Dado que os câncros em estado avançado raramente são compatíveis com o emprego e uma vez que é uma condição que pode consumir recursos consideráveis, em termos de cuidados de saúde, surge um grave problema de Saúde Pública (Salakari *et al*, 2015). O número de sobreviventes idosos com cancro também irá aumentar à medida que a população envelhece. Comparativamente com doentes mais jovens, os idosos com cancro geralmente têm co-morbilidades mais graves. As co-morbilidades em pacientes com cancro avançado estão associadas a uma necessidade de reabilitação física e emocional, orientada esta última também para a família do doente. Para muitos doentes com cancro em estado avançado, a sobrevivência à doença significa viver com uma condição crónica e complexa. Muitos pacientes acabam com sequelas a longo prazo requerendo cuidados e apoio contínuos (Salakari *et al*, 2015).

A palavra cancro vem do latim *cancer* e significa caranguejo. Provavelmente foi empregue em analogia à forma de crescimento infiltrante da doença, que pode ser comparada às patas deste crustáceo, que as introduz na areia ou lama para se fixar e dificultar sua remoção. Atualmente, a definição científica de cancro refere-se ao termo neoplasia, especificamente aos tumores malignos, como sendo uma doença caracterizada pelo crescimento descontrolado de células transformadas. Existem cerca de 200 tipos que correspondem aos vários sistemas de células do corpo, os quais se diferenciam pela capacidade de invadir tecidos e órgãos, vizinhos ou distantes (Almeida *et al*, 2005).

O cancro está entre as principais causas de morte com alta morbidade e mortalidade (Kang *et al*, 2018). É documentado como um complexo grupo de doenças causadas por interações de múltiplos fatores, tais como suscetibilidade genética, influências ambientais e de estilo de vida, agentes infecciosos e envelhecimento, para os quais, a quimioterapia tradicional e tratamentos anticancerígenos direcionados, exercem os seus efeitos por citotoxicidade direta ou inibição do crescimento do tumor. No entanto, os efeitos curativos destas terapêuticas nem sempre são eficazes e são frequentemente associados a numerosos efeitos secundários. Consequentemente, a busca por terapias anticancerígenas mais eficientes continua a ser um dos maiores desafios da medicina (Mioso *et al*, 2017).

Para um composto citotóxico ter potencial anticancerígeno tem que pelo menos mostrar seletividade entre as células normais e as células cancerígenas, atividade contra células cancerígenas multirresistentes e um mecanismo preferencial de morte celular não apoptótica, isto porque está comprovado que uma grande proporção de células cancerígenas que resistem à quimioterapia são, de facto apoptose resistentes, contra as quais, os fármacos pró-apoptóticos têm eficácia muito limitada (Gomes *et al*, 2015).

A diversidade de produtos naturais atualmente utilizados em ambiente clínico para tratar tumores sólidos, bem como cancros disseminados são verdadeiramente extensos. Sob a pressão da seleção natural, várias espécies produzem metabolitos secundários citotóxicos para combater potenciais predadores, presas ou para competição na chamada "corrida" da evolução. Notavelmente, algumas dessas toxinas naturais parecem exibir atividade antineoplásica potente e, após anos de pesquisa, descobriu-se o caminho do oceano e/ou do solo para o ambiente altamente heterogéneo da oncologia clínica (Trendwosky, 2015).

Nas últimas décadas houve um forte crescimento nas chamadas terapias alvo (*targeted therapies*) e um dos alvos das terapias anticancerígenas mais bem-sucedidas, a tubulina, continua a ser o foco de intensos esforços de pesquisa. Curiosamente, a natureza mostrou ser uma das melhores fontes de novas moléculas que se ligam à tubulina e dois dos fármacos mais bem-sucedidos que tem como alvo os microtúbulos, o paclitaxel e os alcaloides de vinca naturais, foram originalmente isolados de fontes terrestres (Martín *et al*, 2013).

Os produtos naturais, desde a Antiguidade, têm um papel relevante nas terapias das doenças oncológicas. Atualmente existe um número considerável de agentes anticancerígenos usados diariamente na prática clínica, que são naturais, ou derivados de produtos naturais de várias origens, como vegetal, animal ou microbiana e também de origem marinha. Nos últimos anos, a descoberta de fármacos com base em produtos naturais tem vindo a aumentar com o aparecimento de novas tecnologias de rastreio de atividade farmacológica. A vincristina, o etopósido e o paclitaxel, são exemplos clássicos de produtos derivados de plantas, assim como, actinomicina D, mitomicina C, doxorubicina e L-asparaginase são exemplos de fármacos derivados de fontes microbianas. A citarabina é um fármaco sintético que aparece como sendo o primeiro que

resultou da investigação de compostos de origem no mar. Outros fármacos com a mesma origem, tanto de organismos marinhos como de plantas, surgiram posteriormente, tais como a trabectedina, a briostatina -1 e o neovast (Nobili *et al*, 2009).

O meio ambiente oceânico tem sido uma vasta fonte de compostos naturais abrangendo uma ampla gama de bioatividade, desde fotoprotetores, anti-helmínticos, antibacterianos, antifúngicos, anti-inflamatórios, anti-maláricos, antituberculosos, antivirais, cobrindo igualmente uma ampla gama de mecanismos de ação. Nas últimas décadas vários produtos farmacêuticos marinhos têm sido desenvolvidos na área dos fármacos anti-tumorais. Diversos organismos marinhos, que vão desde esponjas, associações simbióticas entre esponjas e micróbios, gorgonianos (corais), actinomicetes e coral macio, têm sido explorados como potenciais fontes de agentes anticancerígenos (Bhatnagar *et al*, 2010).

De entre os vários compostos, os péptidos cíclicos destacaram-se como novas opções para o desenvolvimento farmacêutico, uma vez que entre estes se encontram muitos compostos biologicamente ativos. Vários péptidos cíclicos anticancerígenos de proveniência marinha foram notificados, incluindo a jaspamida isolada de esponjas do gênero *Jaspis johnstoni*, a didemnina produzida pelo tunicado caribenho *Trididemnum solidum* e outras espécies do mesmo gênero, a plitidepisina obtida do tunicado *Aplidium albicans*, as dolastatinas isoladas do molusco marinho *Dolabella auriculária*, as briostatinas pesquisadas a partir do briozoário marinho *Bugula neritina* e a salinoporamida A produzida por *Salinispora tropica*, um actinomicete marinho obrigatório (Lee *et al*, 2017).

Os compostos marinhos naturais representam uma fonte interessante de novas moléculas com potente atividade quimioterapêutica ou quimiopreventiva. Nas últimas décadas, estudos de relação estrutura-atividade têm levado ao desenvolvimento de análogos derivados naturais ou semi-sintéticos com bioatividade melhorada, alvo semissintético melhorado ou menor toxicidade (Schumacher *et al*, 2010).

A descoberta, isolamento, caracterização bioquímica/farmacológica, ensaios pré-clínicos e clínicos de fármacos derivados do meio marinho estão continuamente em

desenvolvimento e a aumentar. Uma das áreas em desenvolvimento, mais promissoras é da terapia do cancro (Nastrucci *et al*, 2011).

1.1. Objetivos

O tema “Antineoplásicos derivados do mar” foi escolhido pela importância que a quimioterapia antineoplásica tem nos dias de hoje. Este tratamento é de extrema importância na sobrevivência e na sobrevida livre de doença.

Este trabalho de revisão bibliográfica tem como objetivo principal realizar um estudo aprofundado sobre os antineoplásicos derivados do mar atualmente aprovados, fazendo também uma breve referência aos que ainda se encontram nas diversas fases de investigação. Durante a pesquisa efetuada foi realizado um levantamento das espécies de organismos marinhos que se tornaram fonte de fármacos antineoplásicos, dos grupos químicos de fármacos mais promissores e dos seus principais mecanismos de ação, por forma a compreender os seus efeitos anticancerígenos, as suas associações com outros grupos terapêuticos utilizados no tratamento de neoplasias e a sua aplicabilidade na terapêutica. Desta forma, encontram-se descritos no decorrer do texto, os fármacos já aprovados para uso na terapêutica pelas entidades competentes e os que ainda se encontram nas diversas fases de aprovação, dos quais foram descritos os que se julgaram mais auspiciosos.

1.2. Metodologia

Em termos metodológicos, e tendo por base o objetivo estabelecido, procedeu-se à pesquisa de artigos científicos e outras publicações relevantes, num período compreendido entre os meses de fevereiro a outubro de 2018, efetuando-se em paralelo a realização do trabalho escrito. Como fontes de pesquisa científica foram utilizadas: *PubMed*, *ScienceDirect*, *b-On* e o *Google Académico*. A escolha destas bases de dados para a realização da pesquisa bibliográfica prendeu-se com o facto de serem aquelas que, regra geral, compilam o maior número de artigos científicos recentemente publicados na área das Ciências da Saúde. Foram também efetuadas pesquisas noutras fontes credíveis, tais como: Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde I.P.

(INFARMED), *European Medicines Agency (EMA)*, *Food and Drug Administration (FDA)*.

Os termos usados na pesquisa foram: *antineoplastics from sea*, *anticancer sea drugs*, *marine pharmacology*, *cancer statistics*, *cancer treatment*, *cancer survivorship*, *cytarabine*, *trabectedine*, *eribulin*, *halichondrine B*, *Antibody Drug Conjugate (ADCs)*, *dolostatins*, *brentuximab vedotin*, *aplidin*, *plitidepsin*, *plinabuline*, *lurbinectedin*, *salanisporamide A*, *marizomib*, *plocabulin*, *glembatumumab vedotin*, *briostatins*, *frondoside A*.

Os critérios usados na seleção dos artigos científicos presentes neste trabalho prendem-se com a relevância para o tema, limitando-se a pesquisa a artigos e estudos escritos em inglês, português e espanhol, com data de publicação preferencial dos últimos 10 anos (o limite temporal foi alargado quando o conteúdo dos estudos em questão se considerou relevante).

Para a realização do trabalho escrito final foram selecionadas 77 publicações. Das quais, 73 artigos científicos, recolhidos nos motores de busca referenciados anteriormente; 4 Resumos dos Relatórios Públicos Europeus de Avaliação destinados ao público e um Relatório de Recusa da Autorização de comercialização, emitidos pela EMA.

II. QUIMIOTERAPIA ANTINEOPLÁSICA

Nos últimos anos, foi feito um progresso notável para a compreensão dos marcadores propostos para o desenvolvimento e tratamento do cancro. No entanto, com a sua crescente incidência, a gestão clínica do cancro continua a ser um desafio no século XXI. As modalidades de tratamento compreendem radioterapia, cirurgia, quimioterapia, imunoterapia e terapia hormonal. (Baskar *et al*, 2012).

O objetivo primário da quimioterapia antineoplásica é destruir as células neoplásicas, preservando as normais. No entanto, a maioria dos agentes quimioterápicos atua de forma não-específica, lesando tanto células malignas quanto normais, particularmente as células de rápido crescimento, como as gastrointestinais, capilares e as do sistema imunitário. Isto explica a maior parte dos efeitos colaterais da quimioterapia: náuseas, perda de cabelo e suscetibilidade maior às infeções (Almeida *et al*, 2005).

A importância clínica dos agentes antineoplásicos induz a necessidade de estudo sistemático, o que primeiramente deveria ser feito com o uso de classificações químicas, levando-se em conta os diferentes grupos funcionais presentes na estrutura das moléculas dos agentes anticancerígenos. Contudo, a variedade de tipos de compostos utilizados em quimioterapia oncológica é tão grande, que tal classificação só pode ser feita indiretamente (Almeida *et al*, 2005). Desta forma Calabresi e Chabner organizaram uma classificação conveniente dos fármacos antineoplásicos na qual o critério se baseia no ponto de interferência com as diferentes etapas da síntese do ADN, transcrição e transdução (Almeida *et al*, 2005).

De fato, existem diversos mecanismos que estão envolvidos na evolução de uma célula normal para uma célula potencialmente maligna, mas a maior parte deles interferem na divisão celular e, assim o conhecimento do ciclo celular ou dos seus mecanismos é importante para que haja a compreensão da etiologia do cancro (Figura 1) (Almeida *et al*, 2005).

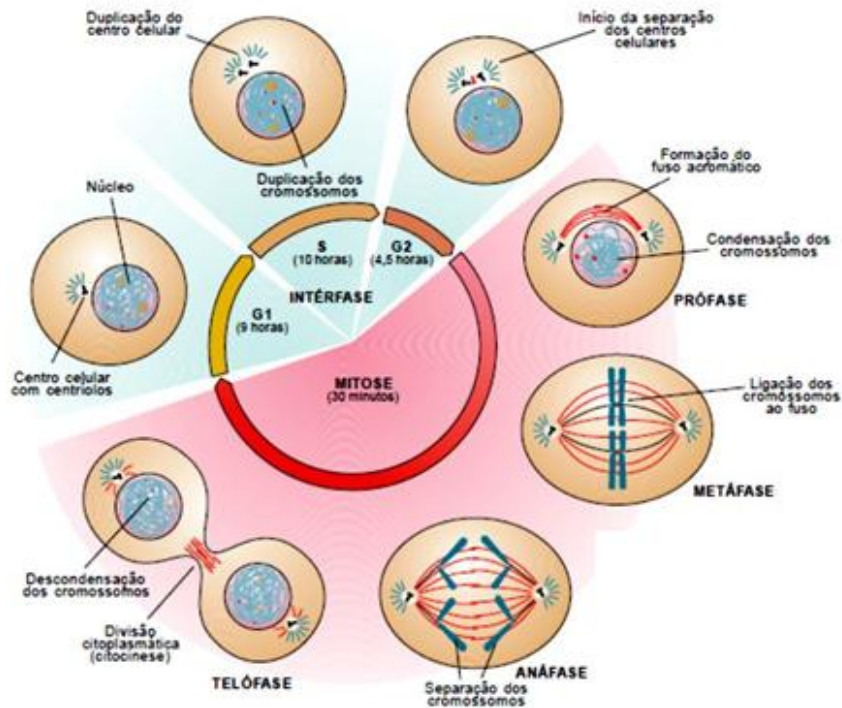


Figura 1. Fases do ciclo celular (Adaptado de Almeida *et al*, 2005).

A célula que não se está a replicar representa-se na fase G_0 . Nesta fase, o ADN apresenta-se muito enovelado, com atividade nuclear baixa. Este estágio pode ser modificado para a fase G_1 , onde há a preparação da célula para a multiplicação, com a produção de constituintes celulares que serão essenciais para a nova célula que será gerada, além da preparação para a síntese de ADN, que ocorrerá na fase S (Almeida *et al*, 2005).

Nas fases G_1 e S existem diversos mecanismos reguladores que irão afetar a multiplicação celular. Os fatores de crescimento, como os produtos de oncogenes, ativam a multiplicação celular, enquanto os controlos de retroalimentação (“feedback”) são inibidores da multiplicação celular. Estes controlos são, por exemplo, genes supressores tumorais, que detêm a replicação celular quando há dano no ADN, para que ele seja reparado. Outro mecanismo regulador é a apoptose (morte celular programada), que provoca a morte da célula em detrimento da possibilidade desta sofrer mutação podendo levar ao cancro. Na fase G_2 há a síntese de componentes para a mitose (divisão celular com manutenção do número de cromossomas específico da espécie) como a produção do fuso mitótico que é feita na fase M. Após a divisão do material nuclear há a citocinese (que é a separação da célula mãe, formando as duas células filhas com os seus organelos

e demais constituintes celulares), finalizando desta forma, o ciclo de replicação celular (retorna à fase G_0). A célula tumoral ou transformada não finaliza o ciclo de replicação celular (não retorna à fase G_0), passa assim da fase M para nova fase G_1 (Almeida *et al*, 2005).

Muitos fármacos antineoplásicos exercem a sua ação sobre as células que se encontram em alguma das fases ativas do ciclo celular, e são denominados fármacos ciclo-celular específicos (por exemplo, os agentes alquilantes do ADN ou os antimetabólitos). Um segundo grupo de agentes, denominados fármacos não específicos do ciclo-celular, tem a capacidade de destruir as células tumorais independentemente de estarem a passar por uma fase ativa do ciclo celular ou de estarem em repouso na fase G_0 (como por exemplo, os taxóides). A Figura 2 mostra uma correlação aproximada dos ciclos metabólicos com os tipos de agentes quimioterápicos antineoplásicos mais comuns (Almeida *et al*, 2005).

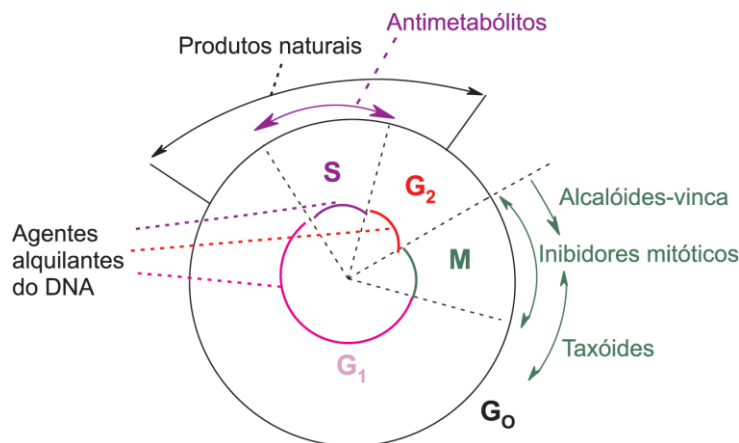


Figura 2. Classificação dos agentes antineoplásicos com base na sua fase de atuação no ciclo celular (Adaptado de Almeida *et al*, 2005).

III. ANTINEOPLÁSICOS DERIVADOS DO MAR

A diversidade de organismos no meio ambiente marinho inspirou investigadores durante muitos anos a identificar novos produtos, que poderiam eventualmente ser desenvolvidos para a terapêutica (Mayer *et al*, 2011). A pesquisa farmacêutica recente está também centrada na busca de fármacos obtidos a partir de organismos marinhos que desenvolveram moléculas biologicamente únicas (Schumacher *et al*, 2011).

Entre os compostos obtidos a partir do mar destacam-se os que se ligam à tubulina e alguns destes, como discodermólido, dolastatina 1 e hemiasterlina, entraram em ensaios clínicos, mas foram posteriormente descontinuados devido a problemas de toxicidade (Martín *et al*, 2013). Com maior sucesso, a plinabulina, um análogo sintético da halimida, permanece em desenvolvimento clínico e a eribulina, um análogo do macrólido natural marinho halicondrina B foi aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA) e pelas autoridades Europeias para o cancro da mama em 2010 e 2011, respetivamente (Martín *et al*, 2013).

Muitos investigadores isolaram péptidos anticancerígenos de várias fontes marinhas, tais como, cianobactérias, fungos, esponjas, tunicados, ascídianos, moluscos e peixes. Estes péptidos anticancerígenos causam morte celular através de um mecanismo único que envolve seletividade para as células tumorais e quebra de membrana (Kang *et al*, 2018).

Os lipopéptidos são péptidos lineares ou cíclicos acilados por um lípido, geralmente tem uma cadeia lateral de ácido gordo. Os péptidos anticancerígenos da família das dolastatinas incluem lipopéptidos lineares e cíclicos (Lee *et al*, 2017).

Os depsipéptidos são péptidos em que um ou mais grupos amida são substituídos por ligações éster correspondentes. Tem sido relatado que vários depsipéptidos cíclicos de organismos marinhos possuem atividades biológicas potenciais. A esponja marinha *Jaspis johnstoni* produz um depsipéptido cíclico antineoplásico (jaspamida), que consiste estruturalmente num anel macrocíclico de 15 carbonos com três resíduos de aminoácidos. Sete novos análogos da jaspamida, contendo um beta-aminoácido no esqueleto do peptídeo cíclico, foram sintetizados para avaliar a capacidade de romper a molécula de

actina na terapia do cancro de próstata e mama (Lee *et al*, 2017). A plitidepsina, que tem propriedades anticancerígenas, é um depsipéptido cíclico com uma estrutura química muito semelhante à da didemnina B. A única diferença é a substituição do resíduo de lactato pela sua forma oxidada, o piruvato (Lee *et al*, 2017).

As briostatinas são péptidos antitumorais isolados a partir de *Bugula neritina* e outros briozoários marinhos. As briostatinas são um grupo de 20 lactonas macrocíclicas com a fórmula molecular $C_{47}H_{68}O_{17}$. As briostatinas contêm um núcleo de macrolactona comum ligado a três anéis tetrahidropirânicos (Lee *et al*, 2017). A salinosporamida A, que tem atividade antineoplásica, é um novo péptido bicíclico com um núcleo β -lactona γ -lactâmico com a fórmula molecular $C_{15}H_{20}ClNO_4$. Este composto pode ligar-se irreversivelmente à subunidade β do proteossoma 20S devido ao seu farmacóforo γ -lactâmico- β -lactônico, que contém dois centros de carbono tetra substituídos contíguos (Lee *et al*, 2017).

Para entender o porquê de as quimioterapias existentes frequentemente demonstrarem eficácia limitada a longo prazo, os investigadores estão cada vez mais a concentrar-se no microambiente do tumor, para desenvolver fármacos direcionados ao alvo molecular. As células do microambiente tumoral, incluindo infiltrados de linfócitos tumorais e células neoplásicas, têm sido usadas para monitorizar respostas imunes e prever respostas ao tratamento (Goto *et al*, 2018).

Os anticorpos monoclonais (trastuzumab, pertuzumab, cetuximab e rituximab) mostraram ter um papel importante no tratamento do cancro, tornando-se o modelo de tratamento em tumores sólidos e linfomas. Por outro lado, a quimioterapia clássica, base do tratamento antineoplásico atual, demonstra uma seletividade limitada contra as células tumorais, com uma estreita janela terapêutica, limitando assim sua eficácia. Os conjugados fármaco-anticorpo (ADCs) associam estas duas classes de fármacos com as suas propriedades complementares, criando um tratamento altamente seletivo e altamente citotóxico com um aumento da janela terapêutica (Diamantis *et al*, 2016).

Esta nova classe emergente de agentes de tratamento anti-tumoral combina os anticorpos, que conferem a seletividade do tratamento direcionado com, a potência citotóxica dos quimioterápicos a estes ligados. O desenvolvimento da tecnologia que permite associar os anticorpos a novas cargas citotóxicas altamente potentes possibilitou o desenvolvimento de ADCs mais eficazes e seguros. Nos últimos anos, dois ADCs foram licenciados e já estão a criar o seu lugar no tratamento do cancro: o trastuzumab emtansina, cuja carga citotóxica foi inspirada num composto de origem vegetal e o brentuximab vedotin, que possui um composto análogo de origem marinha (Diamantis *et al*, 2016).

A tabela seguinte apresenta alguns compostos derivados do mar, o respetivo estado de investigação clínica, a fonte marinha a partir do qual foram obtidos bem como a respetiva aplicação na terapia oncológica (Tabela 1).

Tabela 1. Compostos derivados do mar usados na terapêutica e em fase de investigação (Adaptado de Midwestern University, 2018).

Nome do composto	Nome comercial (ano de aprovação pela FDA)	Organismo Marinho	Classe Química	Alvo Molecular	Aplicabilidade
Estado clínico: APROVADO					
Trabectedina	Yondelis® (2015)	Tunicado	Alcaloide	Sulco menor do ADN	Sarcoma dos tecidos moles e cancro do ovário
Brentuximab vedotin	Adcetris® (2011)	Molusco/ cianobactéria	ADC (MMAE)	CD30 e microtúbulos	Linfoma maligno anaplásico das grandes células T, Linfoma de Hodgkin
Mesilato de Eribulina	Halaven® (2010)	Espanja	Macrólide	Microtúbulos	Cancro da mama metastático
Citarabina (Ara-C)	Cytosar-U® (1969)	Espanja	Nucleósido	ADN polimerase	Leucemia

Antineoplásicos derivados do mar

Estado clínico: FASE III					
Plinabulina (NPI-2358)	Não disponível	Fungo	Dicetopiperazina	Microtúbulos	Cancro do pulmão não das pequenas células, Tumor cerebral
Plitidepsina	Aplidin®	Tunicado	Depsipéptido	Rac1 e Ativação da JNK	Mieloma múltiplo, Leucemia, Linfoma
Lurbinectedina (PM01183)	Não disponível	Tunicado	Alcaloide	RNA Polimerase II	Cancro: Ovário, cancro, mama, SCLC
Depatuzumab mafodotin (ABT-414)	Não disponível	Molusco/ cianobactéria	ADC (MMAF)	Recetor do Fator de Crescimento Epidérmico e microtúbulos	Glioblastoma, Tumor cerebral pediátrico
Estado clínico: FASE II					
Polatumumab vedotin (DCDS-4501A)	Não disponível	Molusco/ cianobactéria	ADC (MMAE)	CD79b e microtúbulos	Linfoma: Não Hodgkin, das células B, folicular, Leucemia linfocítica crónica.
Denintuzumab mafodotin (SGN-CD19A)	Não disponível	Molusco/cianobactéria	ADC (MMAF)	CD19 e microtúbulos	Linfoma difuso das grandes células B Relapso/refratário e primeira linha
AGS-16C3F	Não disponível	Molusco/cianobactéria	ADC (MMAF)	ENPP3 e microtúbulos	Carcinoma das células renais
Plocabulina (PM184)	Não disponível	Esonja	Policetídeo	Sulco menor do ADN	Tumores Sólidos
Tisotumab vedotin	HuMax®-TF-ADC	Molusco/cianobactéria	ADC (MMAE)	Fator tecidual e microtúbulos	Cancro: ovário, cervical, do endométrio, da bexiga, da próstata, do esófago, do pulmão não das pequenas células Carcinoma cutâneo da cabeça e pescoço.
Enfortumab vedotin ASG-22ME	Não disponível	Molusco/cianobactéria	ADC (MMAE)	Nectin-4 e microtúbulos	Tumores; Oncologia médica; Neoplasmas; Cancro metastático urotelial
Glebatumumab vedotin (CDX-011)	Não disponível	Molusco/cianobactéria	ADC (MMAE)	GPNMB e microtúbulos	Cancro da mama metastático, Melanoma Metastático, Cancro da mama triplo negativo
GSK2857916	Não disponível	Molusco/cianobactéria	ADC (MMAF)	BCMA	Mieloma múltiplo
Ladiratumumab vedotin (SGN-LIV1A)	Não disponível	Molusco/cianobactéria	ADC (MMAE)	LIV-1 e microtúbulos	Cancro da mama
Briostatina 1	Não disponível	Briozoário	Macrólido lactona	Proteína quinase C	Alzheimer

Estado clínico: FASE I					
ABBV-085	Não disponível	Molusco/ cianobactéria	ADC (MMAE)	LRRC15	Tumores sólidos
Telisotuzumab vedotin (ABBV-399)	Não disponível	Molusco/ cianobactéria	ADC (MMAE)	C-Met	Tumores sólidos
ABBV-221	Não disponível	Molusco/ cianobactéria	ADC (MMAE)	EGFR e microtúbulos	Tumores sólidos
ASG-67E	Não disponível	Molusco/ cianobactéria	ADC (MMAE)	CD37 e microtúbulos	Cancro linfóide maligno refratário e recidivante
ASG-15ME	Não disponível	Molusco/ cianobactéria	ADC (MMAE)	SLITRK6 e microtúbulos	Cancro metastático urotelial
Marizomib (Salinosporamida A; NPI-0052)	Não disponível	Bactéria	Beta-lactona-gama lactâmico	Proteosoma 20S	Cancro: do pulmão não das pequenas células, pancreático; Melanoma, Linfoma, Mieloma múltiplo

ADC: *Antibody Drug Conjugate*; Ara-A: 9- β -D-arabinofuranosiladenina; Ara-C: Citosina Arabinósido; BCMA: Antígeno de Maturação de Células B, do inglês *B-cell Maturation Antigen*; CD: Marcador de diferenciação, do inglês *Cluster of Differentiation*; C-Met: Proteína-tirosina cinase Met (proto oncogene) do inglês *Tyrosine-Protein Kinase Met*; EGFR: Recetor do factor de crescimento epidermal, do inglês *Epidermal Growth Factor Receptor*; ENPP3: Ectonucleotido de Pirofosfatase / Membro da Família da Fosfodiesterase 3 do inglês *Ectonucleotide Pyrophosphatase/Phosphodiesterase Family Member 3*; FDA: *Food and Drug Administration*; GPNMB: Glicoproteína transmembranar não metastática tipo B, do inglês *Glycoprotein nonmetastatic B*; JNK: proteína cinase N-terminal c-Jun, do inglês *c-Jun N-terminal protein kinases*; LIV-1: Transportador de zinco SLC39A6, do inglês *Zinc transporter SLC39A6*; MMAE: Monometil auristatina E; MMAF: Monometil auristatina F; RAC1: Substrato da toxina botulínica C3 relacionado a Ras 1, do inglês *Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1*; SLITRK6: gene localizado no cromossoma 13, da família 6 SLIT e NTRK Like, do inglês *SLIT and NTRK like family member 6*.

Os compostos derivados do mar atualmente usados na terapêutica oncológica e aqueles mais promissores que estão sob investigação clínica serão discutidos posteriormente.

3.1. Fármacos antineoplásicos derivados do mar aprovados na terapêutica

A partir da década de 50 do século passado até aos dias atuais, são muitos os antineoplásicos derivados do mar que têm sido identificados em diversas espécies de organismos marinhos. Na atualidade existem mais de uma centena destas espécies com aplicação na terapia oncológica, alguns dos quais encontram as suas moléculas ativas em várias fases de ensaios clínicos, com vista ao estudo de propriedades como a eficácia e a segurança. Outros, embora em número reduzido e de seguida aqui discutidos, já foram aprovados e são comercializados em vários países para o tratamento de diversos tipos de tumores por parte das autoridades competentes, como a *Food and Drug Administration* (FDA) e a Agência Europeia do Medicamento (EMA) (Cheung *et al*, 2015).

3.1.1. Citarabina

Em 1951, o nucleósido de timina contendo arabinose e, em 1955, o arabinonucleósido de uracilo foram isolados a partir da esponja *Cryptotethia crypta*, e receberam o nome vulgar, espongonucleósidos. Cada um dos nucleósidos, 1-β-D-arabinofuranosiltimina e 3-β-D-arabinofuranosiluracilo, foram posteriormente sintetizados.

Em 1959 foi relatada a síntese de 3-β-D-arabinofuranosilcitosina, um nucleósido sintético de pirimidina que difere na sua porção açúcar, dos metabolitos normais, citidina e desoxicitidina (Lichtman, 2013). Nesse mesmo ano, foi demonstrado que a 1-β-D-arabinofuranosilcitosina causava um bloqueio da síntese dos ácidos uridílico e citidílico em bactérias *E. coli*.

Em meados da década de 1960, o cloridrato de 1-β-D-arabinofuranosilcitosina (arabinosil citosina) mostrou inibir o metabolismo dos ácidos nucleicos *in vitro* em sistemas bacterianos, virais e de células tumorais (Lichtman, 2013). A arabinosil citosina (também designada citosina arabinósido, ou citarabina (Ara-C) foi única entre os antimetabólitos de pirimidina e purina disponíveis, na medida em que tanto a base como as variedades de açúcar foram encontradas na natureza: citosina como constituinte de células e arabinose presente em algumas plantas e microrganismos (Lichtman, 2013).

A citarabina (Figura 3) é um agente antineoplásico específico de fase do ciclo celular, que atua nas células apenas na fase S da divisão celular. Intracelularmente a citarabina é convertida em citarabina-5'-trifosfato (Ara-CTP), que é o metabolito ativo. O mecanismo de ação não está completamente esclarecido, mas parece que a Ara-CTP atua principalmente através da inibição da síntese de ADN polimerase. A sua incorporação no ADN e RNA também pode contribuir para a citotoxicidade da citarabina. A citarabina é citotóxica para uma grande variedade de culturas celulares proliferativas de mamíferos (EPAR-EMA, 2011). Para os antimetabólitos específicos de fase do ciclo celular, a duração da exposição das células neoplásicas a concentrações citotóxicas é um fator importante determinante da eficácia (EPAR-EMA, 2011).

A citarabina está atualmente disponível como formulações convencionais de citarabina (Cytosar-U1[®]) ou lipossomal (Depocyt1[®]) e recebeu a aprovação da FDA em 1969 (Mayer *et al*, 2010).

A citarabina convencional tem como indicações da FDA o tratamento da leucemia linfocítica aguda, leucemia mielocítica aguda e fase de crise aguda de leucemia mieloide crónica e leucemia meníngea. A citarabina lipossomal é indicada para o tratamento intratecal da meningite linfomatosa (Mayer *et al*, 2010). Na maioria dos doentes este tratamento constituirá parte do tratamento paliativo dos sintomas da doença (EPAR-EMA, 2011).

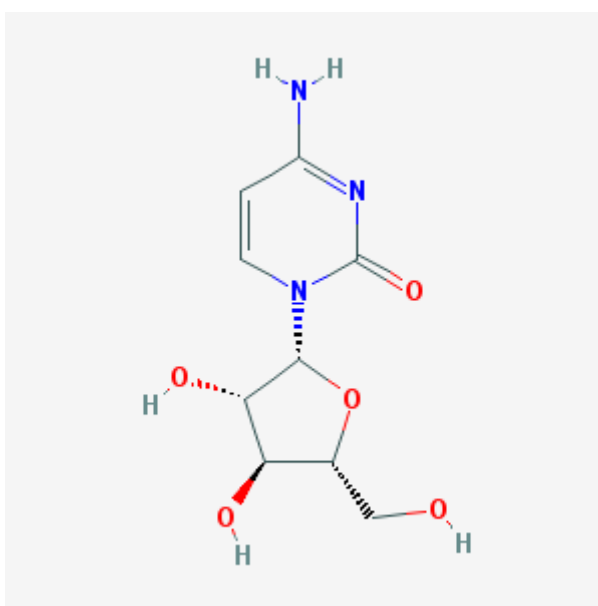


Figura 3. Estrutura química da citarabina (Ara- C) (Adaptado de Pubchem, 2018).

3.1.2. Trabectedina

Conforme referido, o primeiro fármaco anticancerígeno com origem marinha, a citarabina, foi aprovado em 1969 e só em 2007 é que outro agente derivado do mar foi aprovado como medicamento órfão para o tratamento de sarcoma dos tecidos moles e cancro do ovário, a trabectedina (Figura 4).

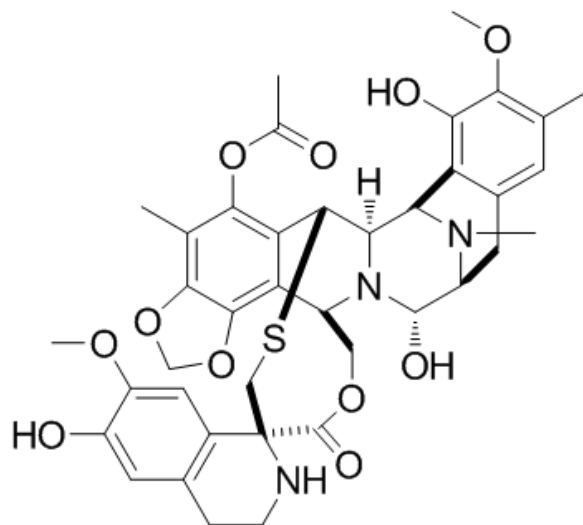


Figura 4. Estrutura química da trabectedina (Adaptado de MedChemExpress, 2018).

Este alcaloide, também designado ET-743 (ecteinascidina 743) foi originalmente isolado a partir de um ascidiano (tunicado), também conhecido por esguicho do mar *Ecteinascidia turbinata*, e foram necessários cerca de 40 anos de investigação para receber aprovação (Schwarzenberg *et al*, 2010).

O extrato de *E. turbinata*, do qual a trabectedina foi isolada, mostrou ter atividade antineoplásica já em 1969, mas a separação e caracterização da molécula ativa não foi viável até o desenvolvimento de tecnologias suficientemente sensíveis. O facto do rendimento do processo de extração da molécula ativa a partir de *E. turbinata* ser extremamente baixo; levava a serem necessários 1000 kg de animais para isolar 1 g de trabectedina, atrasou ainda mais o seu desenvolvimento. Até ao desenvolvimento de um processo de síntese da molécula a investigação clínica não foi viável (Trendowsky, 2015). A síntese química deste composto por múltiplas etapas foi alcançada pela primeira vez em 1996 (Schwarzenberg *et al*, 2010).

O atual fornecimento de trabectedina é baseado num processo semissintético partir de Safracina B, um antibiótico obtido por fermentação da bactéria *Pseudomonas fluorescens* (Trendowsky, 2015).

A trabectedina é um péptido que apresenta uma estrutura química relativamente complexa; três frações de tetrahydroisoquinolina, oito anéis, incluindo um anel heterocíclico de 10 membros contendo um resíduo cisteína e sete centros quirais (fig. 4).

O efeito antitumoral da trabectedina deve-se provavelmente a diversos mecanismos de ação, tais como, à ligação do péptido ao sulco menor da dupla hélice de ADN, à interferência da trabectedina com os mecanismos de reparação do ADN e do ciclo celular e à interação com diversos fatores de transcrição (Petek *et al*, 2015).

A trabectedina apresenta um mecanismo de alquilação do ADN diferente dos outros agentes alquilantes. Esta molécula estabelece ligações covalentes reversíveis com a dupla hélice do ADN, através dos grupos amina dos resíduos de guanina, no sulco menor da cadeia. A ligação da trabectedina ao ADN resulta numa destabilização, que conduz ao dobramento e sobreposição do sulco menor com o sulco maior e conseqüentemente ocorre uma desorganização do citoesqueleto originando o bloqueio do ciclo celular (na fase G1). Conseqüentemente interfere também com reconhecimento e ligação normal a fatores de transcrição, causando a ativação ou inibição de determinados genes, nomeadamente, o gene *CAT* (que fornece instruções para a formação de subunidades de catalase) e o gene regulador da expressão da proteína metalotioneína, que são dois genes fundamentais na regulação celular do stress oxidativo (Costa-Lotufo *et al*, 2009; Petek *et al*, 2015).

A trabectedina inibe também a capacidade da transcrição do ADN durante o seu processo de alongação, através da colisão deste péptido com a RNA polimerase II. Esta enzima é fundamental na expressão genética, e ao ser bloqueada é impedida de completar o normal ciclo de adição de nucleótidos, originando um transcrito que é terminado prematuramente. Esta enzima é posteriormente degradada através do complexo de proteólise ubiquitina-proteossoma que induz a quebra da cadeia de ADN em formação (Figura 5). Após a ligação a tripletos de ADN específicos, a trabectedina induz uma rápida degradação da RNA polimerase II, que é um fator chave na expressão genética. A RNA polimerase II hiperfosforilada, já envolvida no alongamento da transcrição, é especificamente submetida ao processo de degradação da ubiquitina-proteossoma que é paralela à formação de quebras de ADN. O XPF / ERCC1 (endonuclease específica para a reparação do ADN, da via de reparação e excisão do ADN) é o responsável por induzir

quebras de ADN-ss (ADN de cadeia simples) na cadeia oposta ao aducto de ADN que mais tarde são transformadas em quebras de ds-ADN (ADN de cadeia dupla) (figura 5) (Larsen *et al*, 2016).

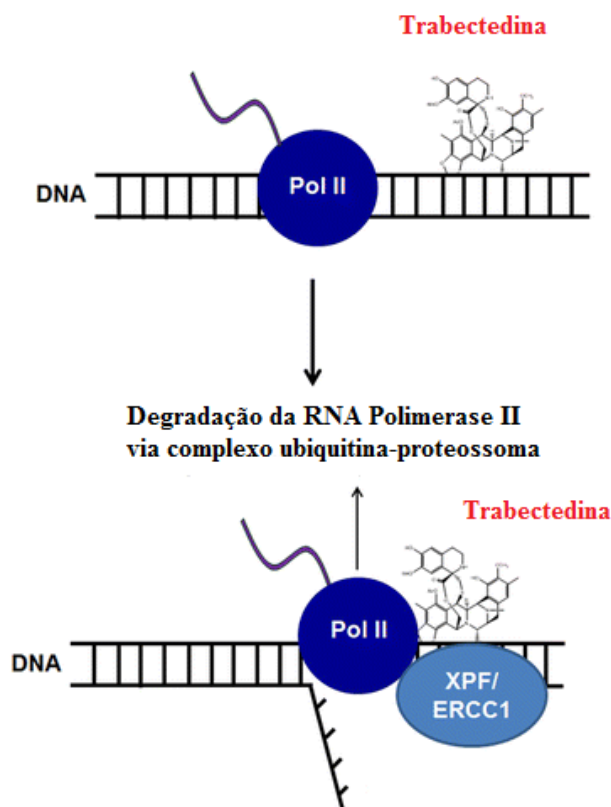


Figura 5. Interação da trabectedina com a enzima RNA Polimerase II e posterior degradação da enzima e quebra da síntese de ADN (Adaptado de Larsen *et al*, 2016).

A degradação da RNA Polimerase II é dependente do complexo TC-NER (*Transcription Coupled Nucleotide Excision Repair*), que representa uma via de reparação por excisão de nucleótidos acoplados à transcrição, e exerce um papel fundamental na atividade da trabectedina. Esta via interfere na reparação de erros na síntese de ADN induzidos pela radiação UV, por outros agentes carcinogénicos e, por alguns agentes alquilantes e pela cisplatina. Os estudos demonstram que as células onde esta via de reparação não está a funcionar são resistentes ao tratamento com trabectedina, o que demonstra que esta é uma via essencial para a morte celular induzida pela trabectedina (Costa-Lotufo *et al*, 2009; Larsen *et al*, 2016). A sensibilidade reduzida da trabectedina em células deficientes neste

complexo de reparação pode estar associada com a própria interferência do fármaco com a transcrição uma vez que várias das proteínas do complexo TC-NER desempenham um papel significativo na regulação da transcrição (De Sanctis *et al*, 2016).

Também a inibição da transcrição do gene *MDR1* (*Multi-Drug Resistance gene*) é um dos mecanismos essenciais da trabectedina, já que este gene é responsável pela produção de glicoproteína-P (proteína transportadora de efluxo, que medeia a passagem xenobióticos, de entre os quais, os fármacos citotóxicos para o meio extracelular). Esta proteína pode apresentar-se sobreexpressa em células tumorais aumentando o efluxo dos fármacos e consequentemente é um mecanismo de resistência das células tumorais a múltiplos fármacos. A trabectedina pode ser usada como coadjuvante na terapêutica antineoplásica prevenindo a sobreexpressão da glicoproteína-P (Costa-Lotufo *et al*, 2009; De Sanctis *et al*, 2016).

Adicionalmente, estudos demonstram que as células que carecem de um mecanismo de recombinação homóloga competente, como os genes supressores de tumor BRAC-1 (*Breast Cancer susceptibility gene 1*) e BRAC-2 (*Breast Cancer susceptibility gene 2*), nos quais ocorreu uma mutação, têm uma sensibilidade à trabectedina cerca de 100 vezes maior (ClinicalTrials.gov., 2018).

Estudos recentes sugerem que a trabectedina induz a apoptose de células do sistema imunitário, nomeadamente monócitos e macrófagos, efeito este associado a uma redução da angiogénese. Por outro lado, a baixas concentrações, a trabectedina inibe a produção de diversos mediadores pró-inflamatórios (Larsen *et al*, 2016; Petek *et al*, 2015).

Esta molécula foi alvo de extensa investigação clínica e mostrou atividade num espectro alargado de tumores sólidos. Em setembro de 2007 a Agência Europeia do Medicamento (EMA) concedeu a sua autorização de comercialização para o tratamento de sarcoma dos tecidos moles, após falha da quimioterapia convencional. Além disso, obtiveram-se resultados positivos num estudo randomizado de fase III quando se comparou a trabectedina em associação com a doxorrubicina lipossomal peguilhada vs doxorrubicina lipossomal peguilhada sozinha, em pacientes com cancro dos ovários (Nobili *et al*, 2009).

A trabectedina (Yondelis® pó para concentrado para solução para perfusão) é indicada para o tratamento de doentes adultos com sarcoma avançado dos tecidos moles, após insucesso das antraciclina e ifosfamida, ou de doentes a quem não seja possível a administração destes agentes. Os dados de eficácia baseiam-se principalmente em doentes com lipossarcoma e leiomiossarcoma (EPAR, EMA, 2012).

Esta molécula, se combinada com doxorubicina lipossomal peguilada (PLD) está indicada para o tratamento de doentes que sofreram recidiva de cancro do ovário sensível à platina (EPAR, EMA, 2012).

3.1.3. Eribulina

A eribulina (Figura 6) é uma cetona macrocíclica totalmente sintética, análoga da halicondrina B, produto natural da esponja marinha *Halichondria okadai* e potente antimitótico, isolado em 1986 (Trendowsky, 2015).

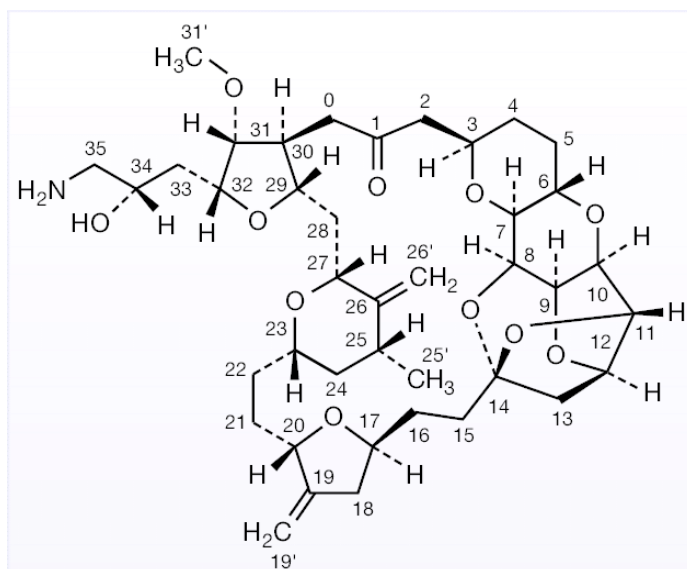
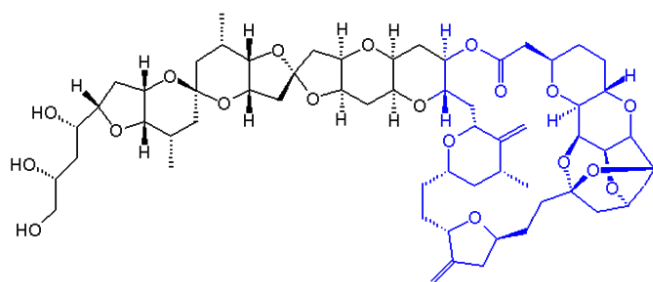


Figura 6. Estrutura química numerada da eribulina (Adaptado de Pean *et al.*, 2012).

A halicondrina B (Figura 7) foi designada para o desenvolvimento pré-clínico após ter demonstrado ser altamente citotóxica contra células de leucemia murina. No entanto, a dificuldade em conseguir molécula ativa em quantidade suficiente atrasou o progresso dos ensaios e o interesse nesta molécula começou a desvanecer (Trendowsky, 2015). Posteriormente, descobriu-se que a atividade deste composto natural reside na lactona macrocíclica, porção C-1 a C-38, o que cimentou o caminho para o desenvolvimento de um análogo sintético simplificado, culminando no desenho da eribulina (Trendowsky, 2015).



Halicondrina B – a parte azul da molécula foi usada para fazer a eribulina.

Figura 7. Estrutura química da halicondrina B, da qual deriva a eribulina, com estrutura destacada a cor diferente (Adaptado de Química Nova Interativa, 2018)

O grande avanço ocorreu em 1992, quando o laboratório Kishi teve sucesso na síntese total de halicondrina B, o que permitiu a concepção, síntese e avaliação de vários análogos do composto, um dos quais, a eribulina (ER-086526, E7389, NSC-707389) (Dybdal-Hargreaves *et al*, 2015). Paralelamente, diversos estudos detalhados revelaram que a halicondrina B inibe a polimerização da tubulina e a hidrólise do trifosfato de guanossina dependente de tubulina, de forma diferente de outros desestabilizadores de microtúbulos. Os efeitos biológicos promissores da halicondrina B levaram à síntese de mais de 180 análogos da halicondrina B. Os ensaios pré-clínicos mostraram atividades ótimas para dois análogos de cetona macrocíclicos e, após extensos testes, o composto substituído com uma amina primária C35 (a eribulina) foi selecionado para desenvolvimento clínico (Dybdal-Hargreaves *et al*, 2015).

A comercialização da eribulina (mesilato de eribulina - HALAVEN® solução injetável) foi aprovada nos Estados Unidos em 2010, e na Europa e no Japão em 2011 (Dybdal-Hargreaves *et al*, 2015).

Este fármaco é um inibidor da dinâmica dos microtúbulos, que inibe a fase de crescimento dos microtúbulos sem afetar a fase de encurtamento e sequestra a tubulina em agregados não produtivos. A eribulina exerce os seus efeitos através de um mecanismo anti mitótico baseado na tubulina que causa o bloqueio das fases G₂/M do ciclo celular, disrupção dos fusos mitóticos e, finalmente, a apoptose celular após bloqueio mitótico prolongado e irreversível (EPAR-EMA, 2015).

A eribulina é clinicamente eficaz em pacientes com cancro da mama. Numa análise conjunta de pacientes com cancro da mama metastático que receberam pelo menos um regime de quimioterapia anterior, a eribulina prolongou significativamente a sobrevida global e aumentou a sobrevida livre de progressão (PFS) e as taxas de benefício clínico em comparação com os tratamentos controle. Num estudo pré-clínico, a eribulina demonstrou efeitos únicos, como a reversão da transição epitelial-mesenquimal. Esse processo pode explicar a observação clínica de sobrevida global prolongada em pacientes tratados com eribulina (Goto *et al*, 2018).

Está indicada para o tratamento de doentes adultos com cancro da mama localmente avançado ou metastático que progrediu após pelo menos um regime quimioterapêutico para a doença avançada. A terapêutica anterior deverá ter incluído uma antraciclina e um taxano, em contexto adjuvante ou metastático, a menos que os doentes não fossem adequados para estes tratamentos. (EPAR-EMA, 2015).

É também indicado para o tratamento de doentes adultos com liposarcoma não resseccionável (que não foi possível extrair total ou parcialmente na cirurgia) que receberam terapêutica anterior contendo antraciclinas (a menos que não fosse adequado) para a doença avançada ou metastática (EPAR-EMA, 2015).

3.1.4. Brentuximab vedotin

A terapêutica com anticorpos revolucionou o tratamento do cancro nas últimas décadas. Os anticorpos que se ligam especificamente a antígenos da superfície do tumor podem ser alvos terapêuticos eficazes; no entanto, muitos anticorpos não modificados necessitam de atividade terapêutica. Estes anticorpos podem, em vez disso, ser aplicados com sucesso como “mísseis guiados” para distribuir fármacos citotóxicos potentes na forma de conjugados fármaco-anticorpo (ADC). O sucesso dos ADCs depende de quatro fatores - antígeno alvo, anticorpo, ligando e carga útil (fármaco). Foram feitos grandes progressos nestas áreas, marcados pela recente aprovação pela *Food and Drug Administration* de dois ADCs, brentuximab vedotin (Adcetris®) e ado-trastuzumab emtansine (Kadcyla®) (Panowski *et al*, 2014).

O brentuximab vedotin é um ADC que consiste em aproximadamente quatro moléculas de monometil auristatina E (MMAE) conjugadas através de um ligando clivável por protease (vedotin) a um anticorpo anti-CD30 (brentuximab) (Figura 9).

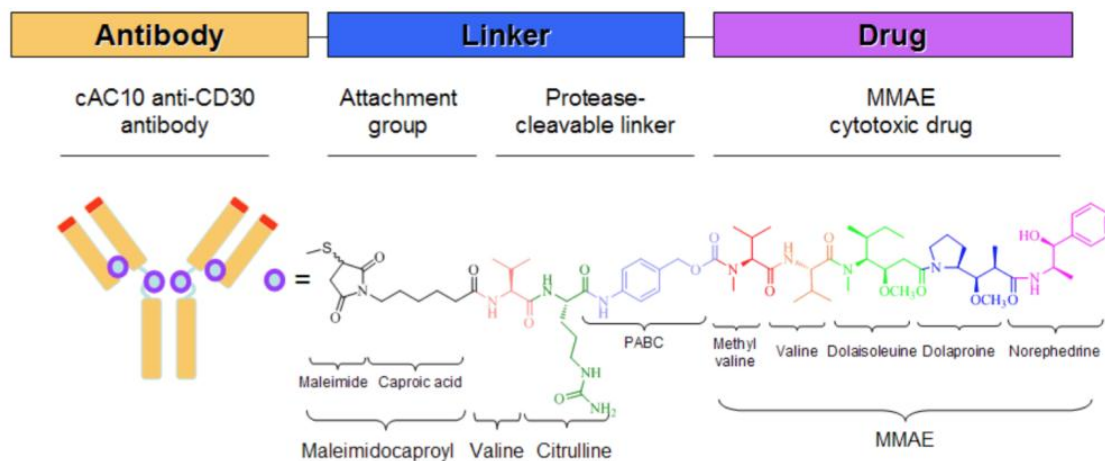


Figura 8. Estrutura química do brentuximab vedotin (ADC), na qual se destaca o MAB (anticorpo monoclonal) e o Vedotin (que consiste nos outros quatro grupos que formam o ADC) (Adaptado de ADC Review Journal of Antibody Drug Conjugates, 2018).

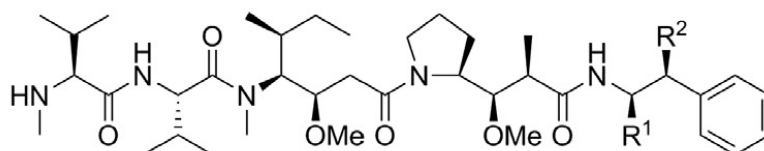
O componente citotóxico deste ADC, a MMAE, foi desenvolvido a partir de compostos naturais com origem marinha, designados dolastatinas.

As dolastatinas são exemplos de potentes disruptores de microtúbulos derivados de cianobactérias marinhas, em particular as dolastatinas 10 e 15. A dolastatina 10 foi inicialmente isolada a partir de um molusco da lebre do mar *Dolabella auricularia* por Pettit *et al.* em 1987. A estrutura química exata desta molécula foi determinada aquando da sua descoberta, o que permitiu a sua síntese total (Maderna et al, 2015).

Na década de 1990, a dolastatina 10 entrou em ensaios clínicos de fase I através do *National Cancer Institute* (EUA) e, posteriormente, progrediu para ensaios de fase II. Porém, os ensaios clínicos foram interrompidos devido a resultados decepcionantes (Tan, 2010). A dolastatina 10 exibe uma atividade anti-proliferativa excepcionalmente potente contra várias linhagens celulares de cancro e é considerada um fármaco anti tumoral bastante promissor, porém, nem a dolastatina 10 nem nenhum dos seus análogos foram

ainda aprovados isoladamente como agentes anti-neoplásicos devido aos seus efeitos tóxicos (Yokosaka *et al*, 2018).

A dolastatina 10 é uma molécula composta por cinco aminoácidos dolavalina (Dov), valina (Val), dolaisoleuína (Dil), dolaproina (Dap) e dolafenina (Doe) (Figura 8).



MMAE (2): $R^1 = \text{Me}$, $R^2 = \text{OH}$

MMAF (3): $R^1 = \text{CO}_2\text{H}$, $R^2 = \text{H}$

Figura 9. Estrutura química da dolostatina 10, com local de substituição de grupos ativos para formar MMAE (monometil auristatina E) e MMAF (monometil auristatina F) (Adaptado de Yokosaka, 2018).

Com base no núcleo estrutural da dolastatina 10, vários análogos foram sintetizados (incluindo a monometil auristatina-E) para serem avaliados em estudos de relação estrutura-atividade (Tan, 2010). Estes estudos sugeriram que a porção Dov N-terminal e a porção Doe C-terminal são relativamente tolerantes a modificações químicas (Yokosaka *et al*, 2018). A remoção de um grupo metil da amina N-terminal da dolastatina 10 produziu a monometil auristatina-D (MMAD-2) e não comprometeu a atividade antitumoral *in vivo*.

Posteriormente Senter *et al*. descobriram que as auristatinas que contêm uma amina secundária no seu terminal N podiam ser unidas a um ligando e subsequentemente conjugadas com anticorpos monoclonais. (Maderna *et al*, 2014). As auristatinas têm atraído atenção, pelo facto de serem veículos favoráveis para formar conjugados fármaco-anticorpo (ADCs).

A MMAE é um exemplo representativo de um veículo favorável e é usado num conjugado anticorpo-fármaco aprovado, brentuximab vedotin (Yokosaka *et al*, 2018). Esta encontra-se ligada a um anticorpo monoclonal que entrega o fármaco citotóxico às células cancerígenas que expressam um antigénio específico, reduzindo assim os efeitos secundários do fármaco citotóxico (Yokosaka *et al*, 2018).

Sendo o brentuximab vedotin um conjugado fármaco - anticorpo o seu mecanismo de ação ocorre por libertação do agente citotóxico que induz a morte por apoptose das células tumorais que expressam a proteína CD30 (proteína transmembranar da família do recetor de necrose tumoral (TNF)(Younes *et al*, 2013; Eyre *et al*, 2014).

O mecanismo segundo o qual o brentuximab atua apresenta múltiplas etapas (Figura 8):

- a) inicialmente, ocorre a ligação do conjugado anticorpo-fármaco à proteína CD30, na superfície celular,
- b) posteriormente este complexo incorpora-se no meio intracelular.
- c) seguidamente, ocorre a transição do complexo para dentro do espaço lisossomal
- d) dentro do lisossoma, a MMAE é libertada por meio de uma clivagem proteolítica.
- e) A MMAE livre liga-se à tubulina originando a desagregação da rede de microtúbulos no interior da célula e induzindo a paragem do ciclo celular e consequentemente a morte das células tumorais que expressam a proteína CD30 (Eyre *et al*, 2014).

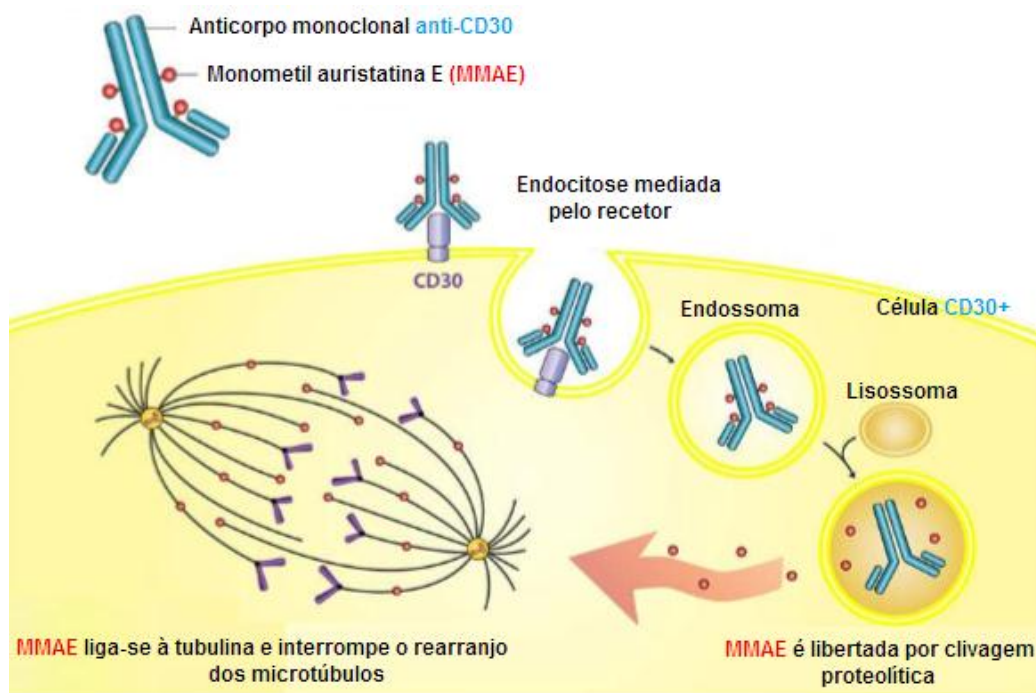


Figura 10. Mecanismo de ação do anticorpo monoclonal brentuximab vedotin conjugado com o péptido monometil-auristatina E (MMAE) (Adaptado de Eyre *et al*, 2014).

O brentuximab vedotin passou por testes pré-clínicos, utilizado como primeira linha na terapêutica do linfoma de Hodgkin em combinação com adriamicina, vinblastina e dacarbazina (AVD), verificando-se uma atividade anti-tumoral superior, quando comparado com as monoterapias de AVD e de brentuximab vedotin, este resultado sugere o potencial efeito sinérgico entre os fármacos. Os principais efeitos secundários associados a esta terapia são: a neuropatia periférica, a neutropenia, as náuseas, os vômitos e o cansaço (Pettit *et al*, 2017; EPAR-EMA-2017).

O linfoma de Hodgkin e o LAGC sistémico apresentam uma sobreexpressão elevada da proteína CD30, como um antígeno de superfície das suas células malignas, o que aumenta a seletividade da terapêutica com brentuximab vedotin para ambos os linfomas. Esta expressão não depende do estado da doença nem da terapêutica usada, fazendo com que a proteína CD30 seja um alvo terapêutico ideal. Uma vez que a sua ação é seletiva para a CD30, o brentuximab vedotin diminui a resistência associada à quimioterapia, uma vez que a proteína CD30 é altamente expressa em doentes refratários à quimioterapia combinada (Eyre *et al*, 2014).

O fármaco Adcetris® (Figura 8), um anticorpo anti-CD30 conjugado por meio de um ligando clivável por protease com monometil auristatina-E, foi aprovado pela FDA em agosto de 2011 e, pela EMA, em outubro de 2012, para o tratamento de linfoma de Hodgkin recidivante ou refratário e no linfoma anaplásico de grandes células (LAGC) (National Cancer Institute, 2018). O fármaco encontra-se aprovado em 65 países, entre os quais se encontra Portugal sendo considerado um medicamento órfão tal como a trabectedina (Pettit *et al*, 2017).

3.2. Fármacos antineoplásicos derivados do mar atualmente em estudos clínicos

Apesar do reduzido número de fármacos derivados do mar aprovados na terapêutica, existe um número considerável de compostos em diferentes fases de ensaios clínicos que se encontram esquematizados na Tabela 1, as moléculas mais promissoras serão abordadas de seguida (Costa- Lotufo, 2009).

3.2.1. Em ensaios clínicos de fase III

i. Plitidepsina

A plitidepsina (Figura 11) é um depsipéptido cíclico, estruturalmente relacionado com as didemninas, e foi isolado originalmente a partir de um tunicado marinho do Mar Mediterrâneo (*Aplidium albicans*). Atualmente é obtida por síntese química e foi desenvolvida sob a forma de pó liofilizado (Aplidin®) devido à sua degradação substancial pelo calor e luz e quando solubilizada (Alonso-Álvarez *et al*, 2017).

A sua atividade anti-tumoral, que foi observada em estudos pré-clínicos *in vitro* e *in vivo*, levou à realização de numerosos ensaios clínicos nos últimos 17 anos, isoladamente ou em combinação com outros agentes anticancerígenos (Alonso-Álvarez *et al*, 2017).

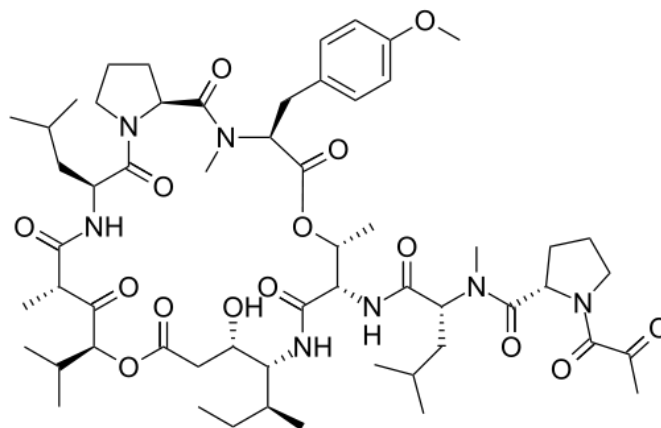


Figura 11. Estrutura química da Plitidepsina (Aplidin®). (Adaptado de Alonso-Alvarez *et al*, 2017).

A plitidepsina isoladamente mostrou atividade anti-tumoral limitada e um perfil de segurança tolerável em vários tipos de tumores malignos, tais como, linfoma das células T periférico não-cutâneo, melanoma e mieloma múltiplo (Alonso-Álvarez *et al*, 2017). Em pacientes com mieloma múltiplo recidivante ou refratário, a atividade da plitidepsina parece ser aumentada após a adição de dexametasona, permanecendo bem tolerada. Um estudo de Fase III que compara plitidepsina e dexametasona *vs* dexametasona sozinha encontra-se a decorrer (Alonso-Álvarez *et al*, 2017). Estudos adicionais são necessários por forma a definir melhor o papel da plitidepsina em combinação com outros agentes ativos nestas indicações. Os resultados da atividade da plitidepsina noutros cancros malignos hematológicos ou tumores sólidos, até este momento, têm sido decepcionantes (Alonso-Álvarez *et al*, 2017). Mais estudos a investigar os seus mecanismos de ação e potenciais biomarcadores ajudarão a selecionar os pacientes que podem beneficiar mais deste medicamento (Alonso-Álvarez *et al*, 2017).

Em termos de mecanismo de ação a plitidepsina induz uma paragem do ciclo celular dose-dependente e um processo apoptótico agudo (Alonso-Álvarez *et al*, 2017). A plitidepsina bloqueia a proteína eEF1A2 (uma das isoformas da subunidade alfa do fator de alongação eucariótico), que se encontra em super-expressão nos tumores humanos e é dotada de propriedades oncogénicas, favorecendo a proliferação de células tumorais enquanto inibe a apoptose (Losada *et al*, 2016).

Em dezembro de 2017, o Comité dos Medicamentos para Uso Humano, do inglês *Committee for Medicinal Products for Human Use* (CHMP) da EMA emitiu um parecer negativo relativamente ao pedido de autorização para comercialização de Aplidin® (plitidepsina), para uso em mieloma múltiplo. Já em 2004, este tinha sido designado como “medicamento órfão” (medicamento para ser usado em doenças raras) (EPAR-EMA, 2017). Esta recusa baseou-se no facto de o CHMP se mostrar reticente com o facto de os dados do estudo principal, apresentado pela empresa que pretende comercializar a plitidepsina, ter evidenciado apenas um modesto aumento no período em que os doentes tratados com esta molécula viveram sem que a sua doença se agravasse, apenas cerca de um mês (EPAR-EMA, 2017).

O mecanismo de ação da plitidepsina envolve diversas vias relacionadas com a apoptose (Figura 12). Os estudos referem que atua através da estimulação da apoptose celular a partir da indução de *stress* oxidativo precoce, o que potencia o aumento das espécies reativas de oxigénio e o consumo de glutathiona (GSH). O *stress* oxidativo precoce promove a rápida ativação da proteína Rac1 GTPase, e a ativação da cinase N-terminal c-Jun (c-JNK) e das proteínas cinases ativadas por mitogénio p38 (p38/ MAPK), culminando na apoptose celular dependente de caspase-3, uma proteína essencial na fase execução da morte celular. É possível observar a fosforilação de c-JNK em 5 a 10 minutos após a exposição ao fármaco (Alonso-Álvarez *et al*, 2017; Lee *et al*, 2009; Suárez *et al*, 2006).

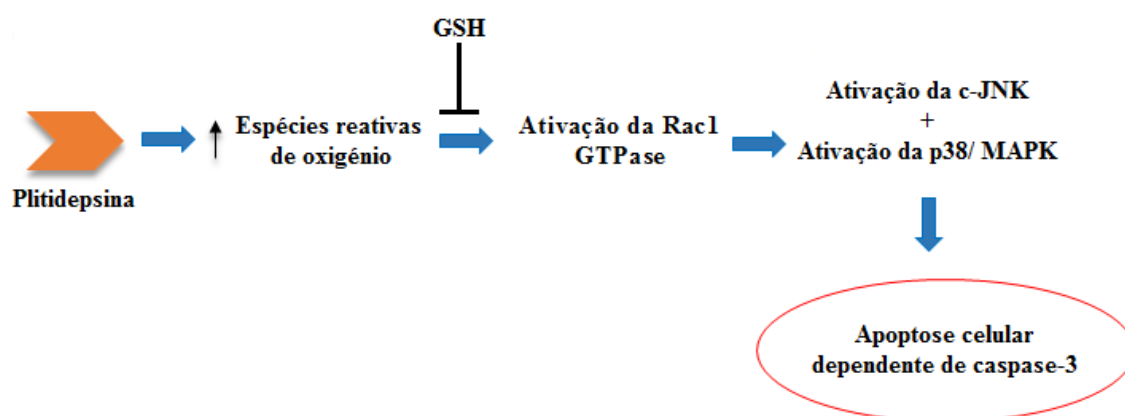


Figura 12. Mecanismo de ação da plitidepsina (Adaptado de Suárez *et al*, 2006).

Por outro lado, a plitidepsina exerce também atividade no microambiente tumoral. Em modelos animais de ratinhos com leucemia linfocítica crônica (LLC), a plitidepsina não afetou apenas o clone de células malignas de LLC, mas também apresentou uma potente atividade contra monócitos e células “*nurse*” (subconjunto células que favorece a progressão de leucemias). Esta ação é induzida quando ocorre apoptose celular, que é evidente a partir de um conjunto de fenômenos que comprovam que a morte celular programada está a ocorrer tal como a exposição precoce de fosfatidilserina no folheto exterior da membrana plasmática, um composto fosfolipídico que geralmente se encontra no interior da membrana plasmática e passa para o exterior quando a célula se encontra em apoptose e ocorre a ativação da caspase-3 (Alonso-Álvarez *et al*, 2017; Suárez *et al*, 2006).

Esta molécula também inibe a secreção do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e a expressão do recetor VEGF-r1. O VEGF desempenha um papel essencial na angiogénese tumoral, pois estimula a proliferação, migração e sobrevivência das células endoteliais. Uma vez que o aumento da expressão do VEGF e dos seus recetores está associado com metastização, a inibição do VEGF constitui uma via para o controlo da proliferação do tumor (Alonso-Álvarez *et al*, 2017; Suárez *et al*, 2006).

ii. Plinabulina

A plinabulina (NPI-2358) é uma dicetopiperazina, e um análogo inteiramente sintético do composto natural conhecido como halimida (NPI-2350) isolado do fungo marinho *Aspergillus sp.* (Figura 13).

A plinabulina atua através do bloqueio da polimerização da tubulina de uma forma única, que resulta de uma ação multifatorial, incluindo uma resposta imuno-oncológica melhorada, pela ativação da via JNK (via de regulação do processo de apoptose celular) e a rutura do suprimento sanguíneo do tumor (Figura 14).

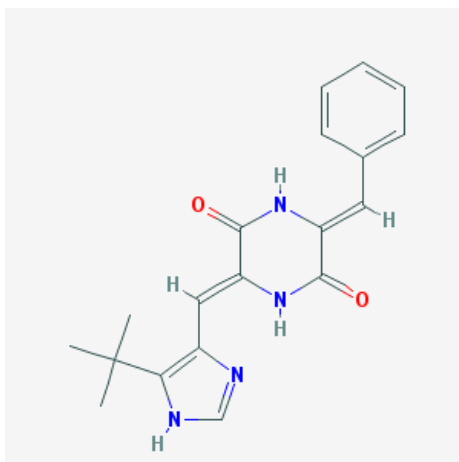


Figura 13. Estrutura química da plinabulina (NPI-2358) (Adaptado de PubChem, 2018).

A plinabulina está a ser estudada para reduzir a neutropenia induzida por quimioterapia e para ação antineoplásica em combinação com inibidores do *checkpoint* imunológico e em tumores com mutação KRAS (*Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog*) (proteína produzida de forma normal que desempenha um papel essencial na sinalização de tecidos, a mutação de um gene KRAS é um passo essencial no desenvolvimento de muitos tipos de cancro) (Mayer *et al*, 2010).

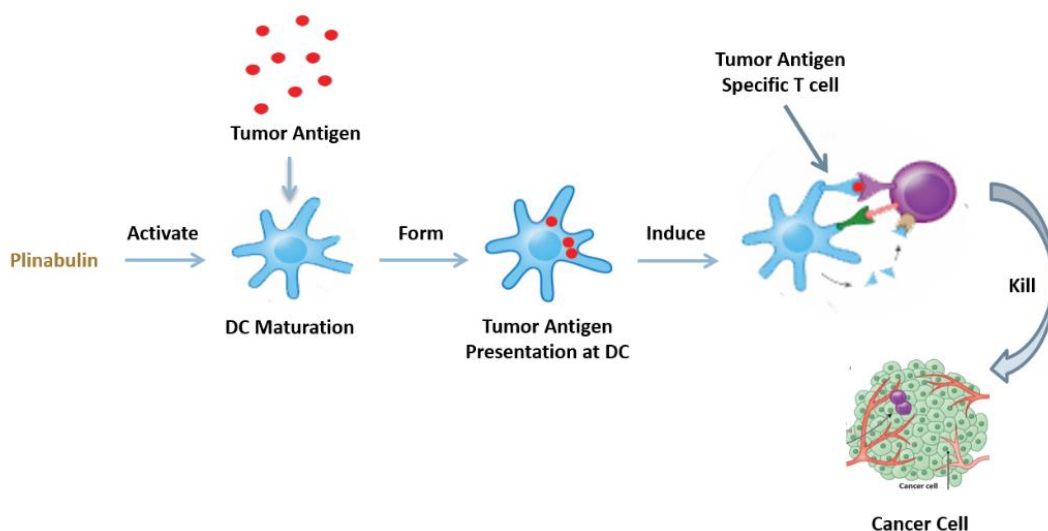


Figura 14. Mecanismo de ação da plinabulina (Adaptado de BeyondSpringPharma, 2016).

A plinabulina despolimeriza os microtúbulos em células de carcinoma do pulmão humano A549. Apesar de estruturalmente diferente dos agentes que se ligam no local de ligação à colchicina relatados até o momento, esta liga-se ao sítio de ligação da colchicina à tubulina. Apresenta uma potente atividade anti-tumoral *in vitro* contra várias linhagens celulares tumorais humanas e mantém atividade contra linhagens celulares tumorais com diversos mecanismos de resistência a múltiplos fármacos (MDR). Além disso, quando avaliada na proliferação de células endoteliais da veia umbilical humana (HUVECs), para concentrações de 10 nmol/L induz a despolimerização da tubulina em 30 min. Os resultados de um estudo da comparação da plinabulina com três agentes despolimerizantes da tubulina com atividade disruptiva vascular: colchicina, vincristina e combretastatina A-4 (CA4) demonstraram que a atividade da plinabulina nas HUVECs era superior à colchicina ou à vincristina; o perfil de CA4 aproximou-se à do NPI-2358. Os estudos revelam que o NPI-2358 é um potente agente antitumoral ativo em linhagens de células tumorais MDR capaz de induzir rapidamente a despolimerização da tubulina e a permeabilidade da monocamada nas HUVECs podendo atuar como agente de ruptura vascular *in vivo* (Nicholson *et al*, 2006).

iii. Lurbinectedina

A lurbinectedina (PM01183) (Figura 15) é um alcaloide análogo da trabectedina que revelou atividade clínica promissora nos diversos estudos clínicos estando atualmente em fase III de estudos em pacientes com cancro de ovário resistente à cis-platina e cancro de pulmão de pequenas células e também, num estudo de fase II em cancro de mama associado ao BRCA1/2 (*breast cancer type 1/2 susceptibility protein*) (Belgiovine *et al*, 2017).

A lurbinectedina é estruturalmente semelhante à trabectedina, diferindo na presença de uma tetrahydro-B-carbolina que substitui o terceiro anel tetrahydroisoquinolínico da trabectedina.

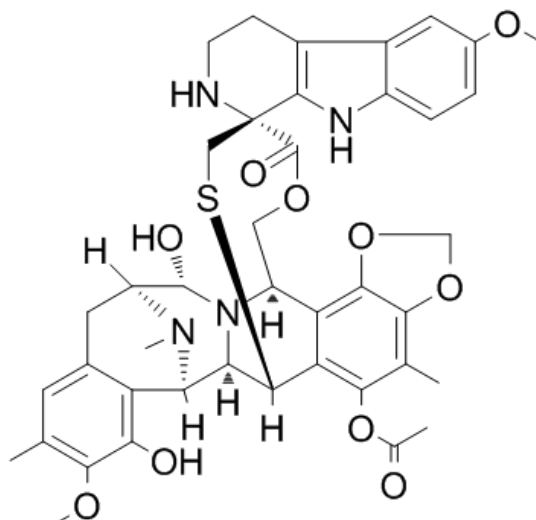


Figura 15. Estrutura química da lurbnectedina (Adaptado de MedChemExpress, 2018).

A lurbnectedina é um composto do grupo dos inibidores da enzima RNA polimerase II (enzima essencial no processo de transcrição). A inibição da transcrição resulta na redução da expressão de certos fatores que estão envolvidos na progressão do tumor e no bloqueio do sistema de reparação do ADN, e conseqüentemente na indução da morte das células tumorais (Takahashi *et al*, 2016).

O mecanismo de ação da lurbnectedina ocorre por inibição do processo de transcrição segundo a seqüência:

- (1) Ligação da lurbnectedina às seqüências de ADN ricas em CG, localizadas principalmente em torno de promotores de genes codificadores de proteínas;
- (2) O bloqueio irreversível da RNA Pol II alongado no molde de ADN e a sua degradação específica pelo complexo de ubiquitina/proteassoma;
- (3) Cisão do ADN e subsequente apoptose (Santamaria-Núñez *et al*, 2016) (Figura 16).

- Blockade of trans-activated transcription but not of basal transcription.
- Induction of the degradation of RNA Pol II but not of RNA Pol I nor of RNA Pol III.

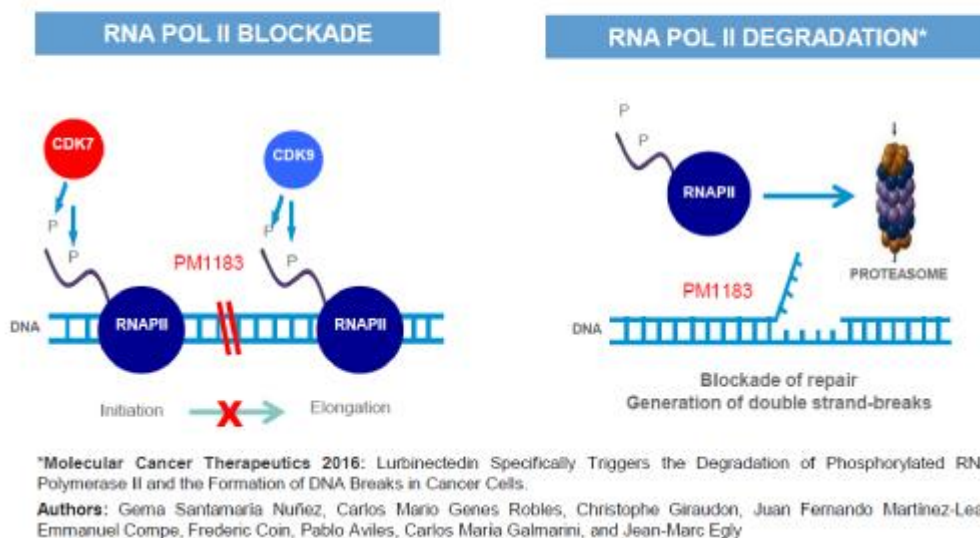


Figura 16. Mecanismo de ação da lurbinectedina (Adaptado de PharmaMar, 2016).

Por outro lado, a lurbinectedina pode inativar o fator de transcrição aberrante EWS-FLI1 no sarcoma de Ewing, removendo a proteína das suas sequências-alvo e redistribuindo-a no nucléolo (Harlow *et al*, 2016).

Os principais efeitos tóxicos da lurbinectedina são a supressão da medula óssea e a hepatotoxicidade. As lesões no local de injeção (hemorragia perivascular, inflamação moderada, edema e flebite crônica, necrose e ulceração) também foram observadas em estudos, independentemente da espécie animal utilizada (Harlow *et al*, 2016).

3.2.2. Em ensaios clínicos de fase II

i. Glembatumumab vedotin

A glembatumumab vedotin (CDX-011) (Figura 17) é um conjugado fármaco-anticorpo (anticorpo monoclonal totalmente humano), cujo alvo terapêutico é a glicoproteína transmembranar NMB (GPNMB).

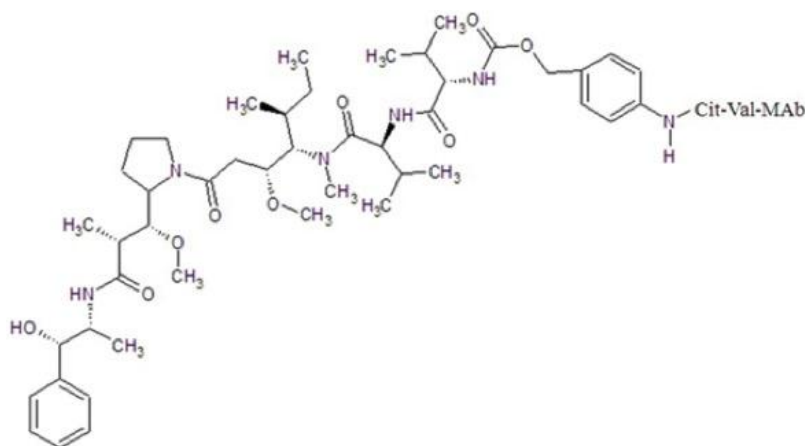


Figura 17. Estrutura química da glembatumumab vedotin (CDX-011) (Adaptado de ADC Review Journal of Antibody Drug Conjugates, 2015).

Vários tumores, incluindo cancro da mama, melanoma e glioblastoma, sobre expressam GPNMB em relação ao tecido normal. A superexpressão da GPNMB é relatada em 40% a 60% dos tumores da mama. No cancro da mama triplo negativo (TNBC), que é definido pela falta de superexpressão dos recetores de estrogénio, progesterona e HER2, a expressão epitelial do GPNMB foi descrita aproximadamente num terço dos casos e está associada a recorrência (Bendell *et al*, 2014).

O glembatumumab vedotin (CDX-011) é um ADC que consiste em CR011, um anticorpo monoclonal IgG2 totalmente humano contra a GPNMB, conjugado através de uma ligação valina-citrulina ao potente inibidor de microtúbulos MMAE (Bendell *et al*, 2014).

A tecnologia de ligação com a MMAE (também usada na terapêutica de linfomas, no brentuximab vedotin) foi projetada de forma a manter a estabilidade do glembatumumab vedotin na corrente sanguínea e para libertar MMAE por clivagem proteolítica após a internalização nos lisossomas das células que expressam a GPNMB (Bendell *et al*, 2014).

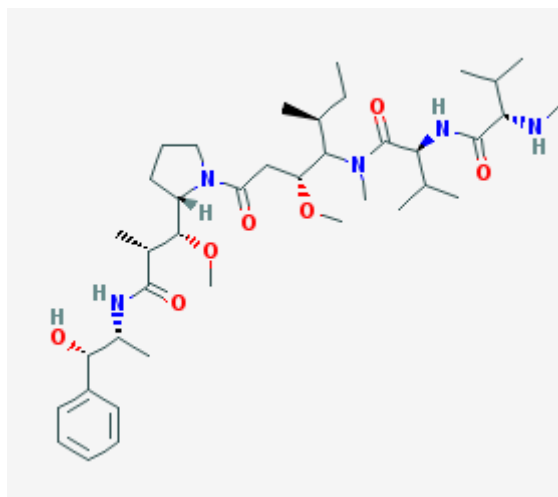


Figura 18. Estrutura química da monometil auristatina E (MMAE) (Adaptado de PubChem, 2018).

Este conjugado fármaco-anticorpo foi desenvolvido para ser estável na corrente sanguínea e para libertar apenas a MMAE após internalização nas células tumorais que expressam a GPNMB, resultando na apoptose destas células (CelleDex Therapeutics, 2013). A empresa farmacêutica que está a desenvolver o CDX-011 (CelleDex) completou os ensaios clínicos de fase II para o tratamento do cancro da mama metastático em doentes com melanoma avançado cujos resultados obtidos demonstraram o benefício clínico desta substância em doentes com cancro da mama com expressão da proteína GPNMB em mais de 25% das células tumorais, que tenham tido um tratamento prévio (CelleDex Therapeutics, 2013). A ação do CDX-011 também está a ser avaliada em doentes com cancro da mama triplo negativo, cancro de pulmão das células escamosas e osteossarcoma com expressão da proteína GPNMB (CelleDex Therapeutics, 2013).

ii. Plocabulina

As esponjas do filo *Porifera*, o filo de metazoários filogeneticamente mais antigo ainda hoje existente, são conhecidas como uma fonte excepcionalmente valiosa de novos produtos naturais marinhos. Como consequência do seu desenvolvimento a nível evolutivo, as esponjas produzem uma grande quantidade de metabolitos secundários, maioritariamente alcaloides, usados como substâncias tóxicas eficazes, que têm um papel importante como proteção contra predadores e microrganismos prejudiciais à sua

sobrevivência. Para além dos alcaloides, as esponjas sintetizam também terpenoides, glicosídeos, fenóis, fenazinas, policetídeos, ácidos gordos, péptidos, análogos de aminoácidos, nucleosídeos, porfirinas, peróxidos cíclicos alifáticos e esteróis, exibindo estruturas altamente complexas e de factual relevância. Alguns destes metabolitos secundários exibem atividade citotóxica pronunciada contra certos tipos de linhas de células malignas, o que os torna potenciais agentes farmacológicos para o tratamento de doenças multifatoriais, tais como o cancro (Mioso *et al*, 2017).

Dois novos compostos marinhos com potencial anticancerígeno, o PM050489 e o PM060184 foram descritos (Figura 19). Estes pertencem a uma nova classe de policetídeos isolados da esponja *Lithoplocamia lithistoides* (Porífera) recolhida em Madagáscar e até então não investigada (Martín *et al*, 2013).

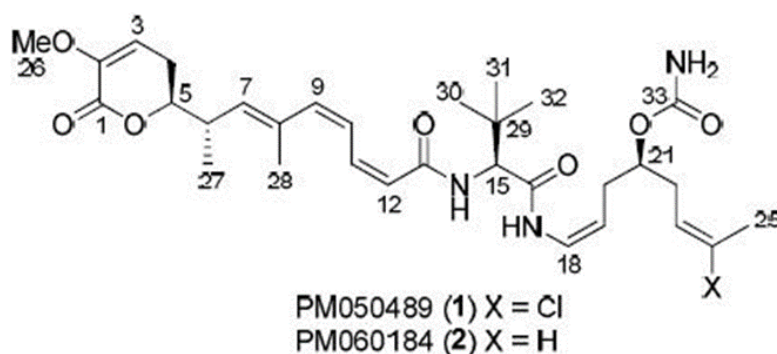


Figura 19. Estrutura química dos PM050489 e PM060184 (Adaptado de Martín *et al*, 2013).

A plocabulina (PM060184, PM184) é um policetídeo (Figura 20) que atua como agente de despolimerização dos microtúbulos e atualmente encontra-se no desenvolvimento de ensaios clínicos de fase II para o tratamento de tumores sólidos.

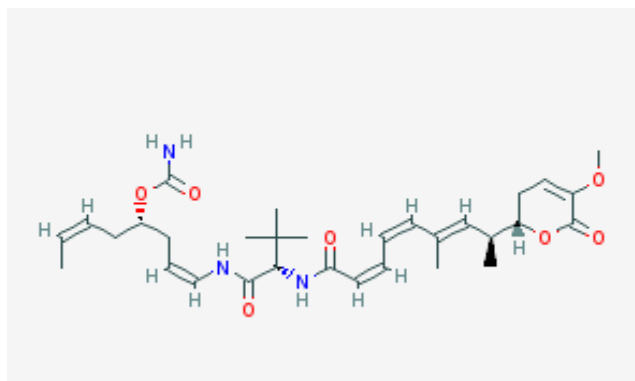


Figura 20. Estrutura química da plocabulina (Adaptado de PubChem, 2018).

Inicialmente isolado da esponja *Lithoplocamia lithistoides*, o composto é atualmente produzido por síntese. A ligação da plocabulina à β -tubulina leva a uma diminuição da instabilidade dinâmica dos microtúbulos e à despolimerização dos microtúbulos de forma dependente da concentração. O fármaco inibe a migração de células em interfase e induz uma paragem prometáfásica em células mitóticas, resultando na indução de apoptose dependente de caspases ou na formação de células polifóides multinucleadas (Pantazopoulou *et al*, 2018).

A plocabulina apresenta atividade antitumoral potente em modelos de xenoinxerto tumoral, incluindo tumores que superexpressam a glicoproteína-P, e demonstrou atividade disruptiva vascular. Assim, a plocabulina poderá ser um fármaco anti-tumoral promissor (Pantazopoulou *et al*, 2018).

3.2.3. Em ensaios clínicos de fase I

i. Marizomib (salanisporamida A)

O marizomib (NPI-0052, salinisporamida A) é um composto natural marinho sintetizado pela bactéria *Salinispora tropica*. O marizomib contém um núcleo bicíclico de gama-lactâmico-delta-lactona, (Figura 21) é um inibidor dos proteossomas que inibe irreversivelmente as três principais atividades catalíticas do núcleo 20S do proteossoma ubiquitina-26S. O marizomib entra rapidamente (dentro de segundos) nas células e forma ligações químicas covalentes em todos os três locais ativos de enzimas no proteossoma,

denominados $\beta 1$ (*caspase-like*; CL), $\beta 2$ (*trypsin-like*; TL) e $\beta 5$ (*chymotrypsin-like*; CT-L). Em poucos minutos, ocorre inibição irreversível tanto *in vitro* quanto *in vivo*, com a inibição biológica sendo revertida pela substituição de células e/ou ressíntese do proteossoma (Harrison *et al*, 2016).

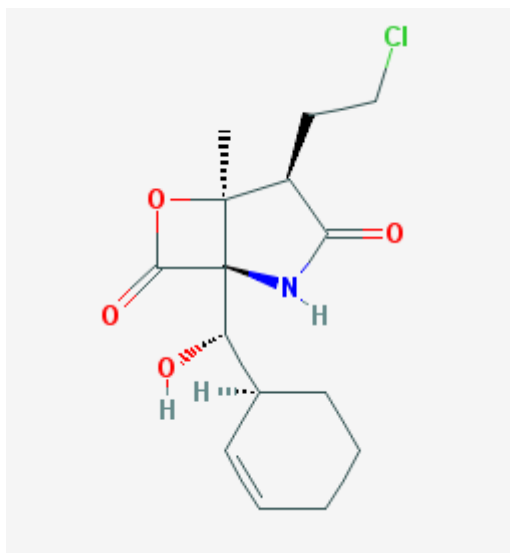


Figura 21. Estrutura química da marizomib (salanisporamida A) (Adaptado de PubChem, 2018).

ii. Briostatina 1

As briostatinas compreendem um grupo de 20 novas lactonas macrocíclicas (macrólidos) originalmente isoladas pelo grupo de Pettit em 1983 a partir de *Bugala neritina*, um animal invertebrado marinho pertencente ao filo *Bryozoa*. Embora existam muitos derivados sintéticos da briostatina 1 até agora ainda não se conseguiu a síntese completa da briostatina 1 e a sua produção ainda é realizada através do cultivo de *Bugala neritina* (Schwarzenberg *et al*, 2010).

As briostatinas ligam-se ao domínio regulador da proteína quinase C (PKC). Após ligação, a briostatina 1 induz a ativação de PKC por autofosforilação e translocação para a membrana celular. A briostatina 1 (Figura 19) foi descrita por ter uma variedade de

efeitos nas linhas de células tumorais. Tem demonstrado que inibe a proliferação, induz a diferenciação final e apoptose, além de mostrar efeitos antineoplásicos e atividade imunomoduladora (Schwarzenberg *et al*, 2010).

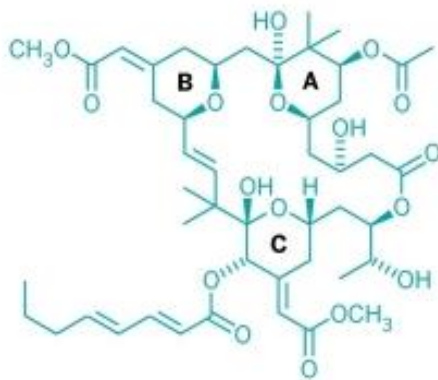


Figura 22. Estrutura química da briostatina 1 (Adaptado de Halford, 2011).

iii. Frondoside A

Os pepinos do mar foram valorizados há centenas de anos como uma iguaria na dieta chinesa, bem como para o tratamento de uma grande variedade de doenças. Nos EUA e Canadá, os seus tecidos são secos, pulverizados e encapsulados, sendo consumidos como nutracêuticos em suplementos dietéticos, estando principalmente dirigidos a condições inflamatórias em seres humanos e também animais de estimação (Marzouqi *et al*, 2011).

O frondoside A é um glicosídeo triterpenoide isolado do pepino do mar, *Cucumaria frondosa*; no entanto, também pode ser produzida por síntese química (Adrian e Collin, 2018).

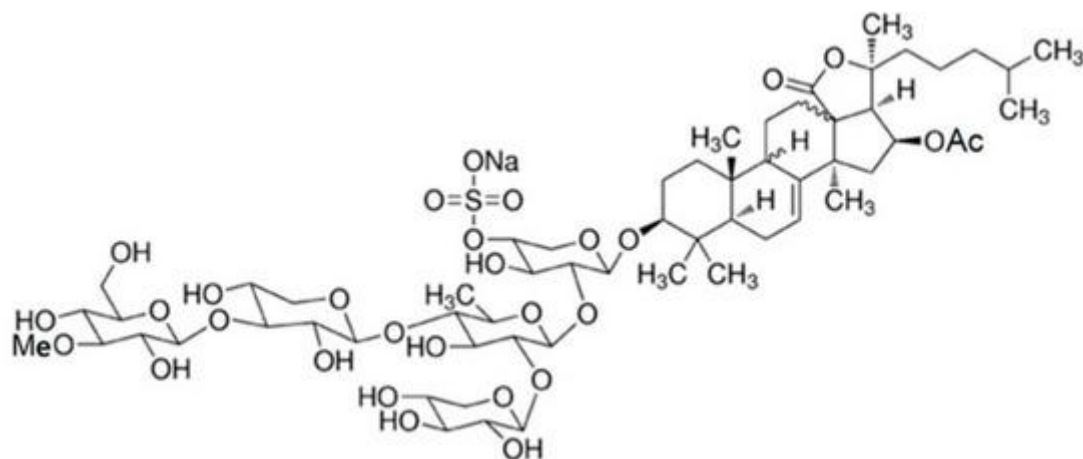


Figura 23. Estrutura química do frondoside A (Adaptado de Aphios, 2012).

O frondoside A tem um mecanismo de ação antineoplásico múltiplo, o que inclui a inibição do crescimento das células cancerosas e a inibição da migração, invasão e formação de metástases. A estes efeitos acrescenta-se a indução da apoptose e ainda o bloqueia a angiogénese. Os efeitos são provavelmente mediados pela inibição da PAK1 (*p21-activated kinase 1*), que se encontra super-expressa em muitos tipos de cancro (Adrian e Collin, 2018).

O frondoside A inibe o crescimento e induz a apoptose de células humanas de cancro pancreático, leucemia e cancro da mama através da via ativação da enzima caspase (Attoub et al, 2012). Os efeitos do frondoside A na viabilidade celular ou proliferação foram também estudados por diferentes métodos em diversos tumores tais como: adenocarcinoma ductal pancreático, cancro da mama, pulmão não de pequenas células, cólon, próstata, colo uterino, bexiga (célula transicional), linfoma de Burkitt, células germinativas malignas e leucemias agudas (Adrian, e Collin, 2018).

Este fármaco potencia os efeitos de agentes terapêuticos convencionais, como o paclitaxel, a cisplatina e a gencitabina, em vários tipos diferentes de cancro. É bem tolerado e parece não ter toxicidade na medula óssea, fígado, rins ou outros tecidos, e não afeta o peso corporal, quando testado em animais e numa faixa terapêutica razoavelmente ampla. Este pode ser um composto promissor no tratamento de diversos tumores, quer em monoterapia, quer em combinação com outras terapêuticas.

CONCLUSÃO

Apesar da constante evolução da medicina, as doenças oncológicas apresentam ainda um elevado índice de mortalidade a nível mundial. Para além disso os tratamentos oncológicos acarretam um peso na sociedade quer a nível económico quer a nível dos cuidados continuados. Assim sendo é imperativo que os estudos científicos encontrem de novas terapêuticas de modo a fazer face à doença.

Nas últimas três décadas assistiu-se a um aumento do isolamento, caracterização química e avaliação da atividade biológica de compostos orgânicos extraídos de organismos marinhos. Muita da investigação centrou-se no estudo das propriedades antineoplásicas dos referidos compostos. Tal como mencionado, a aplicação dos derivados do mar à terapia oncológica apresenta vantagens quando comparados com outros fármacos citotóxicos de origem terrestre, destacam-se, a sua maior seletividade para as células cancerígenas, a baixa relação dose/efeito e a menor probabilidade no desenvolvimento de resistências medicamentosas. O mar e os organismos que o têm por habitat foram prolíficos na produção de compostos com atividade citotóxica. Algas, fungos, e invertebrados marinhos tais como esponjas do mar, pepinos do mar, esguichos, tunicados forneceram uma panóplia de moléculas interessantes, dotadas de atividade terapêutica antineoplásica, merecedoras de atenção e investigação por parte da comunidade científica para que se obtivessem fármacos que viabilizem o tratamento de várias neoplasias e alguns destes são utilizados nos hospitais de todos o mundo. Estas moléculas tão variadas, desde as de estrutura química mais simples à mais complexa, compreendem nucleósidos, alcaloides, macrólidos, péptidos (lipopéptidos, depsipéptidos), policetideos, apresentam mecanismos de ação igualmente variados que permitem o tratamento das neoplasias, nas diferentes fases do ciclo celular, complementando-se e permitindo abordar o tratamento de uma forma mais ampla, com melhores resultados e menores efeitos secundários.

De forma mais recente, vieram revolucionar a terapêutica antineoplásica os ADCs, sendo esta área de investigação na qual se nota uma grande aposta a nível de estudos clínicos, em várias fases. Os ADCs que agregam em si o conceito de “molécula-alvo”, ao juntarem os anticorpos monoclonais (que adicionam especificidade) aos antineoplásicos, de forma a fazer-se um tratamento direcionado e com menos efeitos secundários, especialmente,

não agredindo as células não cancerígenas, já havendo vários comercializados e destacando-se o Brentuximab vedotin como o derivado da pesquisa feita no mar.

Contudo existem alguns constrangimentos no desenvolvimento e na aprovação destes fármacos, nomeadamente, o isolamento em quantidades consideráveis, de matéria-prima constitui um obstáculo a desenvolvimentos céleres nesta área científica o que conduz à diminuição do interesse da indústria farmacêutica nesta área de investigação. Neste sentido, a obtenção por síntese química/bioquímica de compostos derivados do mar ou seus semelhantes, torna-se numa ferramenta fundamental para a produção de grandes quantidades destes compostos, provocando um impacto ambiental mínimo sobre os ecossistemas marinhos e fornece viabilidade económica à investigação e posterior aprovação e comercialização destas moléculas. Um outro problema associado à falta de aprovação de fármacos derivados do mar deve-se à sua aplicação a doenças raras. Assim sendo, os ensaios clínicos para medicamentos órfãos são difíceis de se efetuar devido ao pequeno número de doentes com determinado cancro raro.

O farmacêutico tem um contributo essencial no desenvolvimento e monitorização deste tipo de fármacos citotóxicos devendo munir-se de conhecimento científico no que concerne às características da doença oncológica e às diversas opções terapêuticas existentes no mercado.

Apesar do número de fármacos derivados do mar aprovados com aplicação na terapia oncológica ainda ser reduzido, são muitas as substâncias que se já encontram em ensaios clínicos, prevendo-se um futuro promissor para estas substâncias que quando aprovadas contribuirão para aumentar a potencialidade inerente dos fármacos disponíveis no tratamento do cancro com menos efeitos secundários, resistências, mais possibilidades de tratamento e abranger mais tipos de neoplasias.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADC Review Journal of Antibody Drug Conjugates, BRENTUXIMAB VEDOTIN (SGN35) DRUG DESCRIPTION [Em linha]. Disponível em <https://adcreview.com/brentuximab-vedotin-sgn35/> [Consultado em 21/10/2018].

ADC Review Journal of Antibody Drug Conjugates, GLEMBATUMUMAB VEDOTIN (CDX-011) DRUG DESCRIPTION [Em linha]. Disponível em <https://adcreview.com/glembatumumab-vedotin-cdx-011-drug-description/> [Consultado em 13/10/2018].

Adrian, T. E. e Collin, P. (2018). The Anti-Cancer Effects of Frondoside A. *Mar. Drugs* 16, pp. 64-80.

Agência Europeia do Medicamento - Adcetris® (2017). Resumo do Relatório Público Europeu de Investigação (EPAR) destinado ao público. Disponível em http://www.ema.europa.eu/docs/pt_PT/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/002455/WC500135055.pdf. Consultado em 12/06/2018.

Agência Europeia do Medicamento - Aplidin® (2017). Recusa da Autorização de comercialização. Disponível em http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Summary_of_opinion_-_Initial_authorisation/human/004354/WC500240754.pdf. Consultado em 3/2/2018.

Agência Europeia do Medicamento - DepoCyte® (2011). Resumo do Relatório Público Europeu de Investigação (EPAR) destinado ao público. Disponível em http://www.ema.europa.eu/docs/pt_PT/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000317/WC500035649.pdf. Consultado em 01/02/2018.

Agência Europeia do Medicamento – Halaven® (2015). Resumo do Relatório Público Europeu de Avaliação (EPAR) destinado ao público. Disponível em

http://www.ema.europa.eu/docs/pt_PT/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/002084/WC500105112.pdf. Consultado em 01/02/2018.

Agência Europeia do Medicamento – Yondelis® (2012). Resumo do EPAR destinado ao público. Disponível em https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2007/2007091729908/anx_29908_pt.pdf. Consultado em 01/02/2018.

Almeida, V. *et al.* (2005). Câncer e Agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não específicos que interagem com o DNA: Uma Introdução. *Química Nova*, 28, pp. 118-129.

Alonso-Álvarez, S. (2017). Plitidepsin: design, development, and potential place in therapy. *Drug Design, Development and Therapy*, 11(1), pp. 253-264.

Alonso-Álvarez, S. *et al.* (2017). Plitidepsin: design, development, and potential place in therapy. *Drug design, Development and Therapy*, 11, pp. 253-264.

Aphios Frondoside A Chemical Structure [Em linha]. Disponível em <https://www.aphios.com/products/research-chemicals/frondoside-a.html> [Consultado em 13/10/2018].

Baskar, R. *et al.* (2012). Cancer and Radiation Therapy: Current Advances and Future Directions. *International Journal of Medical Sciences*, 9, pp. 193-199.

Belgiovine, C. *et al.* (2017). Lurbinectedin reduces tumour-associated macrophages and the inflammatory tumour microenvironment in preclinical models. *Br J Cancer.*, 117(5), pp. 628-638.

Bendell, J. *et al.* (2014). "Phase I/II study of the antibody-drug conjugate glembatumumab vedotin in patients with locally advanced or metastatic breast cancer." *Journal of Clinical Oncology*, 32, pp. 3619-3625.

BeyondSpringPharma, Plinabulin Mechanism of Action [Em linha]. Disponível em <https://www.beyondspringpharma.com/en/pipeline/plinabulin/> [Consultado em 13/10/2018].

Bhatnagar, I., *et al.* (2010). Marine Antitumor Drugs: Status, Shortfalls and Strategies. *Marine Drugs*, 8, pp. 2702-2720.

Celldex Therapeutics (2012). Final Data from Celldex Therapeutic's CDX-011 Phase 2 Study in Metastatic Breast Cancer Supports Overall Survival Benefit in Patients with High GPNMB Expression. [Em linha]. Disponível em <http://ir.celldex.com/releasedetail.cfm?ReleaseID> [Consultado em 10/6/2018].

Celldex Therapeutics (2013). Glembatumumab vedotin (CDX-011) - Antibody-Drug Conjugate Targeting GPNMB in Metastatic Breast Cancer and Metastatic Melanoma. [Em linha]. Disponível em <http://www.celldex.com/pipeline/cdx-011.php> [Consultado em 10/06/2018].

Halford, B. (2011). *The Bryostatins Tale*. *Chemical & Engineering News*, 89(43), pp. 10-17.

Cheung, R. C. *et al.* (2015). Marine peptides: Bioactivities and applications. *Marine Drugs*, 13(7), pp. 4006-4043.

ClinicalTrials.gov. (2018). *Restrospective Study of Trabectedin in Soft Tissue Sarcomas (TrObs)*. [Em linha]. Disponível em <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02793050?term=trabectedin&rank=1> [Consultado em 03/05/2018].

Costa-Lotufo, L. V. (2009). Organismos marinhos como fonte de novos fármacos: historico & perspectivas. *Química Nova*, 32(3), pp. 703-716.

De Sanctis, R. *et al.* (2016). Trabectedin for the treatment of soft tissue sarcomas. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 17(11), pp. 1055-1071.

Diamantis, N., Banerji, U. (2016). Antibody-drug conjugates—an emerging class of cancer treatment. *British journal of cancer*, 114, pp. 362-367.

Dyshlovoy, S., *et al.* (2016). "The marine triterpene glycoside frondoside A exhibits activity in vitro and in vivo in prostate cancer." *International journal of cancer*, 138(10), pp. 2450-2465.

Dybdal-Hargreaves, N., *et al.* (2015). Eribulin Mesylate: Mechanism of Action of a Unique Microtubule-Targeting Agent. *Clinical Cancer Research*, 21, pp. 2445-2452.

Eyre, T. A. *et al.* (2014). Anaplastic lymphoma kinase-positive anaplastic large cell lymphoma: Current and future perspectives in adult and paediatric disease. *European Journal of Haematology*, 93(6), pp. 455-468.

Gomes, N., *et al.* (2015). Can Some Marine-Derived Fungal Metabolites Become Actual Anticancer Agents?. *Marine drugs*, 13, pp. 3950-3991.

Goto, W., *et al.* (2018). Eribulin Promotes Antitumor Immune Responses in Patients with Locally Advanced or Metastatic Breast Cancer. *Anticancer Research*, 38, pp. 2929-2938.

Harlow, M. L. (2016). *et al.* (2016). Lurbinectedin Inactivates the Ewing Sarcoma Oncoprotein EWS-FLI1 by Redistributing It within the Nucleus. *Cancer Res*, 76, pp. 6657-6668

Harrison, S. J., *et al.* (2016). Phase I clinical trial of marizomib (NPI-0052) in patients with advanced malignancies including multiple myeloma: study NPI-0052-102 final results. *Clinical Cancer Research*, 22, pp. 4559-4566.

Jensen, P., Moore, B., e Fenical, W. (2015). The marine actinomycete genus *Salinispora*: a model organism for secondary metabolite discovery. *Natural product reports*, 32, pp. 738-751.

Kang, H., *et al.* (2018). Therapeutic Properties and Biological Benefits of Marine-Derived Anticancer Peptides. *International Journal of Molecular sciences*. 19, pp. 919-959.

Larsen, A. K. *et al.* (2016). Unique features of trabectedin mechanism of action. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 77(4), pp. 663-671.

Lee, J. *et al.* (2012). Didemnins, tamandarins and related natural products. *Natural Product Reports*, 29(3), pp. 404-424.

Lee, Y., *et al.* (2017). Structural diversity of marine cyclic peptides and their molecular mechanisms for anticancer, antibacterial, antifungal, and other clinical applications. *Peptides*, 95, pp. 94-105.

Lichtman, M. (2013). A historical perspective on the development of the cytarabine (7 days) and daunorubicin (3 days) treatment regimen for acute myelogenous leukemia: 2013 the 40th anniversary of 7+3. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, 50, pp. 119-130.

Losada, A., *et al.* (2016). Translation Elongation Factor eEF1A2 is a Novel Anticancer Target for the Marine Natural Product Plitidepsin. *Scientific Reports*, 6, 35100. doi: 10.1038/srep35100.

Maderna, A., *et al.* (2014) "Discovery of cytotoxic dolastatin 10 analogues with N-terminal modifications." *Journal of medicinal chemistry*, 57, pp. 10527-10543.

Maderna, A., Leverett, C.A. (2015). Recent Advances in the Development of New Auristatins: Structural Modifications and Application in Antibody Drug Conjugates. *Molecular pharmaceutics*, 12, pp. 1798-1812.

Martín, M., *et al.* (2013). Isolation and First Total Synthesis of PM050489 and PM060184, Two New Marine Anticancer Compounds. *Journal of the American Chemical Society*, 135, pp. 10164-10171.

Mayer, A., *et al.* (2010). The odyssey of marine pharmaceuticals: a current pipeline perspective. *Trends in Pharmacological Sciences*, 31, pp. 255-265.

MedChemExpress, Lurbinectedin Chemical Structure [Em linha]. Disponível em <https://www.medchemexpress.com/Lurbinectedin.html> [Consultado em 13/10/2018].

MedChemExpress, Trabectedin Chemical Structure [Em linha]. Disponível em <https://www.medchemexpress.com/Trabectedin.html> [Consultado em 11/10/2018].

Midwestern University MARINE PHARMACEUTICALS: THE CLINICAL PIPELINE [Em linha]. Disponível em http://marinepharmacology.midwestern.edu/clinical_pipeline.html. [Consultado em 11/10/2018].

Miller, K., *et al.* (2016). Cancer Treatment and Survivorship Statistics, 2016. *CA A Cancer Journal for Clinicians.*, 66, pp. 271-289.

Mioso, R., *et al.* (2017). Cytotoxic Compounds Derived from Marine Sponges. A Review (2010-2012). *Molecules*, 22, pp. 208-242.

Nastrucci, C., *et al.* (2011). Anticancer Drug Discovery from the Marine Environment. *Recent Patents on Anti-Cancer Drug Discovery*, 7, pp. 218-232.

National Cancer Institute (2018). *Types of Cancer Treatment* [Em linha]. Disponível em <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/types>. [Consultado em 03/05/2018].

Nicholson, B. *et al.* (2006). NPI-2358 is a tubulin-depolymerizing agent: *in-vitro* evidence for activity as a tumor vascular-disrupting agent. *Anticancer Drugs*, 17(1), pp. 25-31.

Nobili, S., *et al.* (2009). Natural compounds for cancer treatment and prevention. *Pharmacological Research*, 59, pp. 365-378.

Panowski, S. *et al.* (2014). Site-specific antibody drug conjugates for cancer therapy. *MAbs*. 6(1), pp. 34-45.

Pantazopoulou, A. *et al.* (2018). Molecular basis of resistance to the microtubule-depolymerizing antitumor compound plocabulin. *Scientific Reports*, 8, pp. 8616-8035.

Pean, E. *et al.* (2012). The European Medicines Agency Review of Eribulin for the Treatment of Patients with Locally Advanced or Metastatic Breast Cancer: Summary of the Scientific Assessment of the Committee for Medicinal Products for Human Use. *Clinical Cancer Research*, 18(17), pp.4491-4497.

Petek, B. J. *et al.* (2015). Trabectedin in soft tissue sarcomas. *Marine Drugs*, 13(2), pp. 974-483.

Pettit, G. R. *et al.* (2017). Antineoplastic Agents. 603. Quinstatins: Exceptional Cancer Cell Growth Inhibitors. *Journal of Natural Products*, 80(3), pp. 692-698.

PharmaMar Corporate Presentation, Lurbenectedin Mechanism of Action [Em linha]. Disponível em <https://www.pharmamar.com/wp-content/uploads/2016/10/PharmaMar-corporate-presentation-October-2016-WEB.pdf> [Consultado em 13/10/2018].

PubChem Open Chemistry Database, Citarabine Chemical Structure [Em linha]. Disponível em <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/cytarabine#section=Top> [Consultado em 11/10/2018].

PubChem Open Chemistry DataBase, Marizomib Chemical Structure [Em linha]. Disponível em <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/marizomib#section=Top> [Consultado em 13/10/2018].

PubChem Open Chemistry Database, Monomethyl auristatin E Chemical Structure [Em linha]. Disponível em <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/53297465#section=2D-Structure>. [Consultado em 13/10/2018].

PubChem Open Chemistry Database, Plinabulin Chemical Structure [Em linha]. Disponível em <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Plinabulin#section=2D-Structure> [Consultado em 11/10/2018].

PubChem Open Chemistry Database, Plocabuline Chemical Structure [Em linha]. Disponível em <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/57788271#section=Top> [Consultado em 13/10/2018].

Química Nova Interativa, Sociedade Brasileira de Química, Halicondrina B [Em linha]. Disponível em http://qnint.sbq.org.br/qni/popup_visualizarMolecula.php?id=j6jnh3dNeRGRnEfEzRwouqyN2skUZ8_sgEEvswPMXuJNs9LI72B2Q348eRIIwqW8uZ3N6LxJKs8bRf546tog= [Consultado em 11/10/2018].

Salakari, M., *et al.* (2015). Effects of rehabilitation among patients with advances cancer: a systematic review. *Acta Oncologica*, 54, pp. 618-628.

Santamaria-Núñez, G. *et al.* (2016). Lurbinectedin Specifically Triggers the Degradation of Phosphorylated RNA Polymerase II and the Formation of ADN Breaks in Cancer Cells. *Mol Cancer Ther*, 15, pp. 2399-2412

Schumacher, M., *et al.* (2010). A Survey of Marine Natural Compounds and Their Derivatives with Anti-Cancer Activity Reported in 2010. *Molecules*, 16, pp. 5629-5646.

Schwarzenberg, K., Vollmar, A. (2010). Targeting apoptosis pathways by natural compounds in cancer: Marine compounds as lead structures and chemical tools for cancer therapy. *Cancer Letters*, 332, pp. 295-303.

Siegel, R., *et al.* (2017). Cancer Statistics, 2017. *CA A Cancer Journal for Clinicians*, 67, pp. 7-30.

Suárez, Y. *et al.* (2006). Plitidepsin Cellular Binding and Rac1 / JNK Pathway Activation Depend on Membrane Cholesterol Content. *Molecular Pharmacology*, 70(5), pp. 1654-1663.

Takahashi R, *et al.* (2016). Preclinical Investigations of PM01183 (Lurbinectedin) as a Single Agent or in Combination with Other Anticancer Agents for Clear Cell Carcinoma of the Ovary. *PLoS One*, 11(3), pp. 2559-2566.

Tan, L. (2013). Pharmaceutical agents from filamentous marine cyanobacteria. *Drug discovery today*, 18(17-18), pp. 863-871.

Torre, L., *et al.* (2015). Global Cancer Incidence and Mortality Rates and Trends-An Update. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 25, pp. 16-27.

Trendwosky, M. (2015). Recent Advances in the Development of Antineoplastic Agents Derived from Natural Products. *Drugs*, 75, pp. 1993-2016.

Waight, A., *et al.* (2016) Structural basis of microtubule destabilization by potent auristatin anti-mitotics. *PloS one* 11(8), pp. 1-14.

Yokosaka, S. *et al.* (2018). Synthesis and evaluation of novel dolastatin 10 derivatives for versatile conjugations. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 26, pp. 1643-1652.

Younes, A. *et al.* (2013). Brentuximab vedotin combined with ABVD or AVD for patients with newly diagnosed Hodgkin's lymphoma: A phase 1, open-label, dose-escalation study. *The Lancet Oncology*, 14(13), pp. 1348-1356.