



Compostos de Origem Marinha com Ação Anticancerígena

Olesya Lychuk

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Ciências
Farmacêuticas

Trabalho efetuado sob a orientação de:
Professora Doutora Maria Graça Costa Miguel

Faro, 2019



Compostos de Origem Marinha com Ação Anticancerígena

Olesya Lychuk

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Ciências
Farmacêuticas

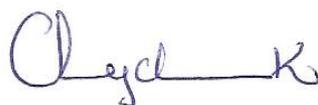
Trabalho efetuado sob a orientação de:
Professora Doutora Maria Graça Costa Miguel

Faro, 2019

Compostos de Origem Marinha com Ação Anticancerígena

Declaração de autoria de trabalho

Declaro ser a autora deste trabalho, que é original e inédito. Autores e trabalhos consultados estão devidamente citados no texto e constam da listagem de referências incluída.



© Olesya Lychuk

A Universidade do Algarve tem o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicitar este trabalho através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, de o divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

Agradecimentos

Um especial agradecimento à minha família pelo incentivo nas horas difíceis, pelo amor e pelo apoio incondicional.

Ao meu companheiro Fábio pela amizade, pela força, pelo carinho, pelo positivismo e acima de tudo, por acreditar em mim.

Aos meus amigos pela amizade e por presenciarem todos aqueles, que para mim, são os momentos mais importantes que vão marcando o meu percurso académico e pessoal.

À minha orientadora, Professora Graça Miguel, pela oportunidade e apoio na elaboração deste trabalho.

Ao NECiFarm, por todas as experiências, aprendizagens e amizades.

À Universidade do Algarve, seu corpo docente, direção e administração pelo ambiente amigável proporcionado aos seus estudantes e pela oportunidade de fazer o curso.

A todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigada.

Resumo

O cancro é uma patologia que se caracteriza pela alteração nos genes responsáveis pelas funções celular, promovendo deste modo um crescimento anormal das células. As alterações que se verificam nos genes podem ser hereditárias, podem resultar de erros ocorridos durante a divisão celular ou podem ser provenientes de mutações no DNA devido à exposição a fatores de risco.

A incidência e a prevalência desta patologia aumentam de dia para dia e segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), o cancro é a segunda causa de morte a nível mundial. Em 2018, cerca de 9,6 milhões de mortes foram causadas por doenças oncológicas e em Portugal, no ano 2017, foram registadas 28 mil mortes causadas por cancro.

Existem diferentes estratégias terapêuticas anticancerígenas, entre as quais a cirurgia, radioterapia e a quimioterapia. A quimioterapia consiste no uso de agentes citotóxicos que atuam através de diversos mecanismos de ação, sendo o seu alvo terapêutico a célula tumoral. Os fármacos utilizados na quimioterapia estão associados a diversos efeitos adversos, entre os quais a toxicidade gastrointestinal, alopecia, toxicidade cardiovascular e toxicidade hematológica. De forma a contornar estes efeitos secundários, novas estratégias têm sido investigadas para aumentar o sucesso destes agentes, nomeadamente a aplicação de produtos de origem marinha.

Os oceanos são uma fonte rica de espécies e compostos bioativos com as mais diversas aplicações na área farmacoterapêutica. Nos últimos anos foram isolados inúmeros compostos com ação anticancerígena, 4 deles já foram aprovados e são utilizados atualmente em situações oncológicas e outras centenas de compostos encontram-se em ensaios clínicos e estudos pré-clínicos.

Esta dissertação irá proceder à descrição de diversos compostos isolados de organismos marinhos invertebrados que se encontram apenas em estudos experimentais e irá ainda abordar os quatro fármacos também obtidos de organismos invertebrados e que se encontram atualmente aprovados para uso em situações oncológicas.

Palavras-chave: Cancro, quimioterapia, toxicidade, compostos de origem marinha.

Abstract

Cancer is a condition characterized by alteration in the genes responsible for cellular functions, thereby promoting abnormal cell growth. Changes in genes may be hereditary, may result from errors during cell division or may result from DNA mutations due to exposure to risk factors.

The incidence and prevalence of this condition increase day by day and according to the World Health Organization (WHO), cancer is the second leading cause of death worldwide. In 2018, about 9.6 million of deaths were caused by cancer diseases and in Portugal, in 2017, 28 thousand of deaths were caused by cancer.

There are different anticancer therapeutic strategies, including surgery, radiotherapy and chemotherapy. Chemotherapy consists of the use of cytotoxic agents that act through various mechanisms of action, and its therapeutic target is the tumour cell. Chemotherapy drugs are associated with several adverse effects, including gastrointestinal toxicity, alopecia, cardiovascular toxicity and haematological toxicity. To avoid these side effects, new strategies have been investigated to increase the success of these agents, namely the application of marine products.

The oceans are a rich source of bioactive species and compounds with various applications in the field of pharmacotherapy. In the last few years several anticancer compounds have been isolated and 4 of them have been approved and are currently used for cancer cases and hundreds of other compounds are in clinical trials and preclinical studies.

This dissertation will describe several compound isolated from marine invertebrate organisms that are only in experimental studies and will also address the four drugs also obtained from invertebrate organisms that are currently approved for use in oncological cases.

Keywords: Cancer, chemotherapy, toxicity, compounds of marine origin.

Índice

Índice de Figuras	XV
Índice de Tabelas.....	XVII
Lista de Abreviaturas.....	XIX
Capítulo I - Introdução.....	1
1.1. O Cancro	1
1.2. Dados Epidemiológicos.....	2
1.3. Capacidades Biológicas do Cancro	3
1.3.1. Manutenção da Sinalização Proliferativa	4
1.3.2. Escape aos Supressores de Crescimento	5
1.3.3. Resistência à Morte Celular	5
1.3.4. Imortalização Replicativa.....	6
1.3.5. Indução da Angiogénese.....	6
1.3.6. Ativação da Invasão e Metastização	7
1.3.7. Desregulação da Energética Celular.....	7
1.3.8. Escape à destruição imunitária	8
Capítulo II – Terapia Anticancerígena.....	9
2.1. Cirurgia Oncológica	9
2.2. Radioterapia.....	9
2.3. Imunoterapia	10
2.4. Terapia Hormonal	10
2.5. Quimioterapia	10
2.5.1. História da Quimioterapia	10
2.5.2. Modalidades da Quimioterapia	12
2.5.3. Classes Terapêuticas da Quimioterapia.....	13
2.5.3.1. Antimetabolitos.....	14
2.5.3.2. Inibidores Mitóticos.....	15
2.5.3.3. Inibidores da Topoisomerase.....	15
2.5.3.4. Antibióticos Antineoplásicos.....	16
2.5.3.5. Agentes Alquilantes.....	16
2.5.3.6. Metais Pesados	17
2.5.4. Toxicidade associada à Quimioterapia	17
2.5.4.1. Toxicidade gastrointestinal.....	17
2.5.4.2. Toxicidade cardiovascular.....	18
2.5.4.3. Alopecia	19
2.5.4.4. Neurotoxicidade.....	19

2.4.5.5. Toxicidade hematológica	20
Capítulo III – Compostos de Origem Marinha com Ação Anticancerígena Estudados.....	21
3.1. Filo Porífera.....	23
3.1.1. Alcaloides.....	23
3.1.1.1. Hirtiocarbolina	23
3.1.1.2. Agelastatina A	24
3.1.1.3. Aaptamina.....	25
3.1.2. Esteróides	26
3.1.2.1 Manadosterol.....	26
3.1.2.2 Petrosterol-3,6-dione e 5 α ,6 α -epoxi-petrosterol	27
3.1.3 Terpenóides	27
3.1.3.1 Sesterpenóide	27
3.1.3.3 Triterpenóide	28
3.1.4 Macrólidos	29
3.1.4.1 Pelurosido A.....	29
3.1.4.2 Tedanolídeos.....	30
3.1.5 Péptidos	30
3.1.5.1 Arenastatina A.....	30
3.1.5.2 Scleritodermin A.....	31
3.2 Filo Equinodermos	31
3.2.1 Glicósidos Triterpénicos	31
3.2.1.1 Frondosídeo A	32
3.2.1.2 Cucumariósido A2-2	33
3.2.1.3 Ds-echinosídeo A.....	33
3.2.1.4 Patagonicosídeo A	34
3.2.1.5 Stichoposídeo C.....	34
Capítulo IV – Fármacos de Origem Marinha com Ação Anticancerígena Aprovados	37
4.1 Citarabina	37
4.2 Trabectedina	39
4.3 Mesilato de Eribulina.....	40
4.4 Brentuximab Vedotina	41
Capítulo V – Considerações Finais	43
5.1 Sumário dos compostos abordados	43
5.2 Limitações dos Fármacos de Origem Marinha.....	45
5.3 Conclusão	46
Referências bibliográficas.....	47

Índice de Figuras

Figura 2.1: Ciclo celular e os determinados agentes citotóxicos (18)	14
Figura 3.1: Número de publicações científicas sobre os compostos de origem marinha. Adaptado de <i>Molecules</i> (35).....	22
Figura 3.2: Estrutura de hirtiocarbolina (41).....	24
Figura 3.3: Estrutura de agelastatina A (43)	25
Figura 3.4: Estrutura de aptamina (44).....	25
Figura 3.5: Estrutura de demetil(oxi)aptamina (44).....	25
Figura 3.6: Estrutura de isoaaptamina (44).....	25
Figura 3.7: Estrutura de manadosterol A (46).....	26
Figura 3.8: Estrutura de manadosterol B (46)	26
Figura 3.9: Estrutura de petrosterol-3,6-dione (47)	27
Figura 3.10: Estrutura de 5 α ,6 α -epoxi-petrosterol (47).....	27
Figura 3.11: Estrutura de heteronemina (49).....	28
Figura 3.12: Estrutura de stellettina B (50)	28
Figura 3.13: Estrutura de pelurosido A (53)	29
Figura 3.14: Estrutura de 13-deoxitedanolídeo (54)	30
Figura 3.15: Estrutura de arenastatina A (56)	30
Figura 3.16: Estrutura de scleritodermin A (57)	31
Figura 3.17: Estrutura de frondosídeo A (60).....	32
Figura 3.18: Estrutura de cucumariósido A2-2 (61).....	33
Figura 3.19: Estrutura de ds-echinosídeo A (61)	33
Figura 3.20: Estrutura de patagonicosídeo A (63) (18).....	34
Figura 3.21: Estrutura de stichoposídeo C (64) (18)	34
Figura 3.22: Esquema sistemático dos compostos marinhos e os seus respetivos mecanismos de ação.....	35
Figura 4.1: Estrutura de citarabina (66)	38
Figura 4.2: Estrutura de espongotimidina (66)	38
Figura 4.3: Estrutura de espon gouridina (66)	38
Figura 4.4: Mecanismo de ação de citarabina (66)	38
Figura 4.5: Estrutura de trabectedina (67).....	39
Figura 4.6: Mecanismo de ação de trabectedina (66).....	40
Figura 4.7: Estrutura de mesilato de eribulina (66).....	41
Figura 4.8: Estrutura de brentuximab vedotina (65).....	41
Figura 4.9: Mecanismo de ação de brentuximab vedotina (66)	42

Índice de Tabelas

Tabela 2.1: Sub-grupos e os respectivos fármacos do grupo terapêutico Antimetabolitos	14
Tabela 2.2: Sub-grupos e os respectivos fármacos do grupo terapêutico Inibidores Mitóticos	15
Tabela 2.3: Sub-grupos e os respectivos fármacos do grupo terapêutico Inibidores da Topoisomerase.....	16
Tabela 2.4: Sub-grupos e os respectivos fármacos do grupo terapêutico Antibióticos Antineoplásicos.....	16
Tabela 2.5: Sub-grupos e os respectivos fármacos do grupo terapêutico Agentes Alquilantes	16
Tabela 5.1: Tabela sistemática de todos os compostos abordados na dissertação.....	44

Lista de Abreviaturas

5-FU – 5-Fluouracilo

13-DT – 13-deoxitedanolídeo

AA – Aminoácidos

AP-1 – Proteína ativadora 1

ARA-C - Citarabina

ATP – Trifosfato de Adenosina

CXR4 – Recetor C-X-R quimiocina do tipo 4

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

E1 – Enzimas ativadoras da ubiquitinina

E2 – Enzimas conjugadoras da ubiquitinina

E3 – Enzimas ligases

EGF – Fator de Crescimento da Epiderme

EMA – Agência Europeia de Medicamentos

ERK – Cinase Regulada por Sinal Extracelular

ERK5 – Cinase Regulada por Sinal Extracelular 5

FDA – *Food and Drug Administration*

GPCRs – Recetores Acoplados à Proteína G

IMC – Índice de Massa Corporal

INE – Instituto Nacional de Estatística

JNK – c-Jun-N-terminal-cinase

MAPK – Proteína-Cinase Ativada por Mitógenos

MDM2 – *Mouse double minute 2*

MDR1 – Gene de resistência a múltiplas drogas

MMAE – Monometil-auristatina E

MTX – Metotrexato

NF-κB – Fator nuclear kappa

OMS – Organização Mundial de Saúde

PAK1 – Proteína serina/treonina cinase

PARP – Poli ADP-ribose polimerase

PeIA – Pelurocido A

PTC - Peptidiltransferase

Rb – Proteína Retinoblastoma

RNA – Ácido Ribonucleico

RON – Registo Oncológico Nacional

RTK – Recetores da Tirosina Cinase

SMase - Esfingomielinase

SNC – Sistema Nervoso Central

TSG – Genes Supressores do Tumor

UV – Ultravioleta

Capítulo I - Introdução

1.1. O Cancro

O cancro é uma doença genética na qual ocorrem alterações nos genes que controlam as funções celulares, promovendo deste modo um crescimento celular anormal. Estas alterações genéticas podem ser hereditárias, podem ainda resultar de erros que ocorrem durante a divisão celular ou podem advir de mutações no DNA devido à exposição a determinados fatores de risco. (1)

Os fatores de risco que estão associados ao desenvolvimento de cancro podem ser fatores físicos, como por exemplo, a radiação ultravioleta (UV); fatores químicos nos quais estão incluídos contaminantes alimentares, contaminantes da água e componentes presentes no fumo do tabaco, e fatores biológicos que estão relacionados com determinados parasitas, vírus e bactérias. Relativamente aos fatores adjacentes ao desenvolvimento de doenças oncológicas, é de realçar que o processo de envelhecimento também é um fator que aumenta a probabilidade de desenvolvimento de cancro. (2)

Atualmente, foram identificados mais de 100 tipos de cancro e à maioria é atribuído o nome dos órgãos onde são formados (ex: o cancro cujas células cancerígenas estão presentes no tecido mamário, designa-se por cancro da mama). Os tipos de cancro também podem ser caracterizados pelo tipo de célula que os constitui, como por exemplo as células epiteliais. (1)

Os cancros podem, então, ser agrupados nas seguintes categorias: (3)

Carcinoma: Este tipo de doença oncológica provém de células epiteliais, que estão presentes nos revestimentos externo e interno do organismo.

Sarcoma: Os sarcomas são formados nos tecidos conjuntivos, como o osso, cartilagem, gordura, músculo e vasos.

Cancro hematológico: Este tipo de cancro tem origem nos linfócitos e poderá desencadear leucemia, linfoma ou mieloma.

Melanoma: Os melanomas têm origem nos melanócitos que, por sua vez, estão localizados na camada superior da derme.

Cancro do Sistema Nervoso Central: Trata-se de doenças oncológicas que têm origem no cérebro ou na espinal medula.

1.2. Dados Epidemiológicos

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), o cancro é a segunda causa principal de morte a nível mundial. Em 2018, cerca de 9,6 milhões de mortes foram causadas por doenças oncológicas, sendo o cancro do pulmão, cancro colo-rectal, cancro do estômago, cancro do fígado e cancro da mama aqueles que mais mortes causaram. Foi ainda estimado que cerca de um terço das mortes causadas por cancro são devidas aos diversos riscos comportamentais e alimentares, entre os quais o elevado Índice de Massa Corporal (IMC), um baixo consumo de frutas e vegetais, uma reduzida atividade física, uso de tabaco e uso de álcool. (2)

Em Portugal, o Instituto Nacional de Estatística (INE) registou que no ano de 2017 houve cerca de 108 mil mortes, sendo 28 mil causadas por tumores, que englobam tanto as situações benignas como as situações malignas, denominadas por cancro. Foram ainda registadas as mortes causadas por cada um dos tipos de tumor maligno, sendo o cancro da traqueia, brônquios e pulmão aqueles que apresentam um maior registo que, por sua vez, corresponde a cerca de 4 mil mortes. (4)

No dia 1 de janeiro de 2018, entrou em vigor o Registo Oncológico Nacional (RON), é um registo centralizado efetuado numa plataforma eletrónica, este tem por objetivo a recolha e análise de todos os doentes oncológicos existentes em Portugal. Este sistema de registo irá permitir a monitorização da atividade realizada pelas instituições e da efetividade da terapêutica, a investigação, a vigilância epidemiológica e a monitorização da aplicabilidade de medicamentos. É de realçar que o RON irá permitir obter informação sobre os tipos de neoplasias existentes em Portugal, tal como também analisar os locais geográficos, as populações de risco, qual o impacto de novos fármacos introduzidos e qual a melhor abordagem de tratamento para cada tipo de cancro. Assim,

trata-se de uma ferramenta crítica para a melhoria no tratamento das neoplasias em Portugal. (5)

1.3. Capacidades Biológicas do Cancro

Em meados da década de 70, os mecanismos do processo de desenvolvimento de uma neoplasia eram desconhecidos, os anos seguintes de investigação proporcionaram um vasto leque de observação sobre o comportamento desta doença, mas não existiam conclusões sólidas sobre o modo de progressão do cancro. No campo da investigação sobre o cancro trabalharam biólogos moleculares, bioquímicos e geneticistas, e entre as décadas 80 e 90 houve um desenvolvimento importante da área do cancro, foram determinados oncogenes e supressores de genes tumorais e foi ainda observado que os genes mutantes causadores de cancro variavam de um cancro para o outro, pois não se verificavam alterações genéticas uniformes. (6)

Dado que o processo de desenvolvimento de uma neoplasia envolve mecanismos complexos e parecia não existir semelhanças entre os mecanismos envolvidos na progressão de vários tumores, em 2000, Douglas Hanahan e Robert Allan Weinberg publicam um trabalho no qual apresentam um princípio de organização que, por sua vez, fornece uma base conceitual para melhor compreender a complexidade do cancro – *Hallmarks of Cancer* – onde propõem seis capacidades biológicas adquiridas durante o desenvolvimento de um cancro que, por sua vez, permitem às células cancerígenas a sobrevivência, proliferação e difusão. As seis capacidades propostas são a) a manutenção da sinalização proliferativa, b) escape aos supressores de crescimento, c) resistência à morte celular, d) imortalização replicativa, e) indução da angiogénese e f) ativação da invasão e metastização. (7) Em 2011 surgem mais duas capacidades biológicas g) a desregulação energética celular h) e escape à destruição imunitária. A aquisição das capacidades biológicas por uma célula cancerígena é possível através de duas características facilitadoras, o desenvolvimento da instabilidade genómica e a promoção de inflamação tumoral. (8)

Cada uma das capacidades biológicas tem um papel fundamental no desenvolvimento e progressão dos tumores e das respetivas células. (9)

1.3.1. Manutenção da Sinalização Proliferativa

Num ciclo celular, a divisão e proliferação são controlados através de sinais indutivos e repressivos. Estes sinais são transmitidos às células através de recetores transmembranares e não existe nenhum tipo celular que consiga proliferar na ausência destes sinais. No caso das células tumorais, a sinalização proliferativa é mantida de forma crónica, ao contrário das células normais, onde esta sinalização é transitória.

Na manutenção da sinalização proliferativa está envolvida uma mutação, na qual os genes das células cancerígenas, definidos por protooncogenes, são convertidos em condutores ativos de proliferação celular, definidos por oncogenes. (9)

Alguns exemplos de oncogenes que estão relacionados com a manutenção da sinalização proliferativa são o fator de crescimento da epiderme (EGF) e a via RAS-RAF-MEK-MAPK que processa e transmite sinais de crescimento estimulantes. (10)

A proteína-cinase ativada por mitógenos (MAPK) é uma subfamília de proteínas cinases específicas de serina/treonina e que se encontra presente em células eucarióticas. Existem quatro tipos de proteínas MAPK:

- Cinase regulada por sinal extracelular (ERK);
- c-Jun-N-terminal-cinase (JNK);
- Cinase regulada por sinal extracelular 5 (ERK5);
- p38 MAPK.

A reação em cascata ERK pode ser ativada por diversos estímulos, como por exemplo os recetores da tirosina cinase (RTK) e recetores acoplados à proteína G (GPCRs). Após a ativação, esta via pode regular a proliferação, diferenciação e apoptose celular.

A reação em cascata RAS/RAF/MEK/ERK é uma importante via de sinalização nas proteínas MAPK. Diversos estímulos podem ativar recetores da superfície celular que irão ativar os sinais de transdução e produzir uma resposta biológica. Ao transmitir os sinais recebidos pelos recetores, a reação em cascata RAS/RAF/MEK/ERK ativa os fatores de transcrição e regula a expressão dos genes. (10)

1.3.2. Escape aos Supressores de Crescimento

Os sinais envolvidos na proliferação de células normais são controlados por mecanismos que bloqueiam a divisão celular estimulada pelo sinal em questão. Os genes que estão relacionados com estes mecanismos de controlo denominam-se por genes supressores do tumor (TSG). A proteína retinoblastoma (Rb) e a proteína p53 são dois supressores do tumor, que por sua vez detetam danos não reparados no genoma da célula e desequilíbrios fisiológicos que poderiam prejudicar a replicação do genoma e a divisão celular, bloqueando sempre que necessário a divisão e o crescimento celular. (9)

Os supressores de tumor Rb e p53 podem apresentar perdas de função devido a mutações, o que irá condicionar a deteção de danos existentes no genoma celular. A maioria dos tumores apresenta mutações genéticas nos supressores Rb e p53, nesta situação as funções dos supressores estão limitadas e não existe um mecanismo de controlo da proliferação celular. (9)

1.3.3. Resistência à Morte Celular

Na presença de uma proliferação celular anormal existem mecanismos celulares intrínsecos que conseguem ativar a morte celular. Uma das formas de morte celular é a apoptose, que consiste numa morte celular programada que por sua vez envolve a degradação dos cromossomas e doutros organelos celulares através de enzimas específicas, tal como também o empacotamento e fragmentação da célula e, por último, o envolvimento quer pelas células vizinhas, quer por macrófagos. (9)

Para além da apoptose, existe um outro mecanismo de morte celular: necrose. Este mecanismo é ativado em situações de privação de oxigénio ou energia, infeção viral e inflamação. As células que morrem através deste mecanismo rompem, libertam o seu conteúdo e recrutam células inflamatórias do sistema imunitário, que irão remover os detritos necróticos libertados. (9)

Quando estamos perante uma privação de nutrientes, as células ativam um terceiro sistema de reciclagem de organelos celulares que se denomina por autofagia. Este

mecanismo degrada organelos celulares não essenciais e pode ajudar na resposta celular perante uma falta de nutrientes. (9)

Assim, as células cancerígenas conseguem contornar estes três mecanismos de morte celular, permanecendo em constante proliferação. (9)

1.3.4. Imortalização Replicativa

Na estrutura de um cromossoma encontram-se telómeros, que são constituídos por milhares de cópias de sequências de DNA específicas. Os telómeros complexados com determinadas proteínas têm por funções proteger as extremidades dos cromossomas da degradação exercida pela maquinaria de reparação de DNA e protege também da fusão com outros cromossomas. (9)

Após cada divisão celular, os telómeros vão sofrendo uma redução progressiva no seu comprimento e quando este comprimento atinge um determinado limite, é ativado um mecanismo que causa um bloqueio no ciclo celular ou então é ativada apoptose mediada pelo supressor de crescimento p53. (9)

No caso das células cancerígenas, estas possuem mecanismos que contornam a resposta antiproliferativa induzida por p53, pois estas adquirem a capacidade de manter os seus telómeros funcionais, pois conseguem evitar o encurtamento dos mesmos, permitindo assim a replicação ilimitada, denominada por imortalização. (9)

1.3.5. Indução da Angiogénese

Para sustentar a viabilidade e proliferação celular, as células cancerígenas necessitam de um aporte de oxigénio e diversos nutrientes através dos vasos sanguíneos. Quando um capilar não se encontra a uma distância suficientemente perto, o fornecimento de oxigénio e nutrientes não ocorre e, conseqüentemente, o crescimento e proliferação celular param. Perante a situação descrita as células ativam diversos sistemas de resposta ao stress que regulam centenas de genes, incluindo aqueles que estão envolvidos na indução da angiogénese, que se caracteriza pela formação de novos vasos sanguíneos e que irão garantir o aporte necessário de oxigénio e glucose. (9)

É de realçar que apesar da angiogénese ser uma capacidade biológica adquirida pela maioria dos cancros, muitos deles conseguem proliferar ao longo dos capilares tecidulares normais e outros tipos de cancros conseguem adaptar e viver em ambientes onde a concentração de oxigénio é muito limitada. (9)

1.3.6. Ativação da Invasão e Metastização

Há células cancerígenas que possuem mecanismos que permitem invadir tecidos adjacentes, vasos sanguíneos e vasos linfáticos. Relativamente aos vasos linfáticos, estes poderão transportar as células cancerígenas até aos gânglios linfáticos, local onde podem formar-se micrometástases, estas podem também entrar na corrente sanguínea. Uma vez na corrente sanguínea, as micrometástases poderão alojar-se nos órgãos onde irão proliferar cada vez mais, originando assim as macrometástases (processo de “colonização”). (9)

1.3.7. Desregulação da Energética Celular

Como fonte para a produção de energia na forma de Trifosfato de Adenosina (ATP), as células utilizam a glucose que é metabolizada tanto pela via da glicólise como também pela fosforilação oxidativa na presença de oxigénio. (9)

As células cancerígenas convertem a glucose em ATP através da glicólise, mesmo estando na presença de oxigénio, pois esta via apesar de ser menos eficiente na produção de ATP em comparação com a fosforilação oxidativa, produz também constituintes necessários para o crescimento e divisão celular. É de realçar que as células cancerígenas não utilizam apenas a via da glicólise para a metabolização da glucose, a fosforilação também é utilizada, ambas em diferentes sub-regiões no interior do tumor. (9)

Para além da glucose, a glutamina também é uma fonte de energia, precursora de aminoácidos e lípidos, atua de forma a aumentar a glucose para o crescimento e proliferação das células cancerígenas. (9)

O lactato é considerado um produto tóxico produzido pelas células após a metabolização da glucose. As células cancerígenas que não obtêm glucose suficiente,

utilizam o lactato para a produção de ATP. Assim existe uma relação de simbiose entre as células que consomem glicose e produzem lactato com as células que consomem lactato. (9)

1.3.8. Escape à destruição imunitária

As células e tecidos saudáveis estão constantemente sobre a monitorização do sistema imunitário que por sua vez, reconhece e elimina a maioria das células anormais. Este processo pode ser dividido em três fases: eliminação, equilíbrio e escape. Durante a fase da eliminação são ativadas as respostas imunes inata e adaptativa, que irão eliminar as células cancerígenas. A fase que se segue após a eliminação, a fase de equilíbrio, consiste na formação de novas mutações que aumentam a resistência à pressão imunológica. A última fase do processo de vigilância imunológica caracteriza-se pelo escape de algumas células cancerígenas aos processos de eliminação. Existem diversos mecanismos de escape propostos, um deles relaciona-se com os antígenos expressos pelas células cancerígenas, que por sua vez poderão ser semelhantes aos antígenos expressos pelas células normais e deste modo não serão reconhecidos pelo sistema imunológico como estranhos ao organismo. Para além do mecanismo mencionado, as células cancerígenas poderão escapar à vigilância imunológica através da secreção de fatores imunossupressores que irão induzir a tolerância imunológica. (9, 11)

Capítulo II – Terapia Anticancerígena

O cancro é uma das principais causas de morte a nível mundial, sendo uma doença para a qual existem diversas modalidades terapêuticas. Quando é estabelecido o diagnóstico de cancro, é fundamental definir o estadiamento da doença para determinar a sua gravidade e planear o tratamento mais adequado. Assim a escolha da terapêutica vai variar consoante o tipo de cancro, se este encontra-se numa fase inicial ou avançada, a localização, a idade do doente e consoante o estado geral de saúde. (12)

As modalidades terapêuticas destacadas para a terapia anticancerígena baseiam-se na cirurgia, radioterapia, imunoterapia, hormonoterapia e quimioterapia. Estas podem ser aplicadas de forma singular, ou pode existir associação entre as diferentes terapêuticas. (13, 14)

2.1. Cirurgia Oncológica

A cirurgia oncológica consiste na remoção do cancro. Dependendo do tipo do cancro e do estadiamento deste, a cirurgia pode ser aplicada para remover o cancro na sua totalidade, caso este esteja localizado apenas numa área; pode ser utilizada para remover apenas uma parte do cancro para garantir maior eficácia de outras terapias posteriormente administradas; ou pode ainda ser utilizada apenas para remover cancros que possam causar dor e pressão. Trata-se de um tratamento localizado, visto que a intervenção é realizada apenas no local onde se encontra o cancro e não se aplica em cancros hematológicos ou naqueles que apresentam metástases. (13, 14)

2.2. Radioterapia

A radioterapia é um tipo de tratamento que utiliza radiação ionizante em altas doses. A radiação origina alterações no DNA das células cancerígenas, promovendo a morte destas. A dose de radiação aplicada é planeada de forma a afetar apenas as células anormais, para que as células saudáveis não sofram alterações graves. A radioterapia pode ser utilizada em tratamentos paliativos que vai consistir na administração de

menores doses de radiação, para reduzir o volume de uma massa, e conseqüentemente, promover o alívio de alguns sintomas. (13, 14)

2.3. Imunoterapia

A imunoterapia é um tipo de tratamento biológico que pode promover a estimulação do sistema imunitário para combater o cancro, ou pode ainda, atacar diretamente as células cancerígenas que constituem o cancro. (13, 14)

2.4. Terapia Hormonal

A terapia hormonal é um tipo de tratamento que tem por objetivo retardar ou parar o crescimento de cancro que utiliza hormonas para proliferar, como por exemplo em situação de cancro da mama e cancro da próstata. (13, 14)

2.5. Quimioterapia

A quimioterapia consiste no uso de compostos químicos, denominados por agentes citotóxicos, que atuam impedindo a divisão das células cancerígenas, ou promover a apoptose destas. (13, 14)

2.5.1. História da Quimioterapia

Até meados do século XX, a radioterapia e a cirurgia eram as terapêuticas dominantes no campo da terapia anticancerígena, porém as taxas de cura resultantes destas modalidades não ultrapassavam os 33%. (15,16)

Durante a Primeira Guerra Mundial, um derrame acidental de um composto denominado por mostarda nitrogenada, permitiu observar que aqueles que estiveram expostos ao gás sofreram depleção da medula óssea e dos gânglios linfáticos. Esta descoberta levou a outras experiências, em que para analisar o potencial efeito terapêutico o composto foi administrado a ratinhos com linfoma, sendo observada remissão do mesmo. (15,16)

No decorrer da Segunda Guerra Mundial, foi identificado um composto presente nos vegetais de folhas verdes, que por sua vez demonstrou ser essencial para a função da medula óssea. O composto em questão era o ácido fólico, para o qual foram desenvolvidos compostos análogos, como a aminopterina e ametofterina (metotrexato), que demonstraram ser eficientes no tratamento em crianças com leucemia. Ainda durante a Segunda Guerra Mundial, a indústria farmacêutica estava empenhada na síntese de produtos de fermentação com o intuito de produzir antibióticos, como a actinomicina D que, por sua vez, tinha propriedades anticancerígenas e deu azo à investigação neste campo, da qual surgiram diversos antibióticos utilizados até aos dias de hoje. (15,16)

A descoberta de compostos como a mostarda nitrogenada e o metotrexato (MTX) foi um estímulo para a produção de outros fármacos. Em 1951, foram desenvolvidas a 6-tioguanina e 6-mercaptopurina, utilizadas não só no tratamento de leucemia aguda, tal como também no tratamento de infeções virais causadas por herpes e como agentes imunossupressores em transplantação de órgãos. Ainda em meados de 1950, foi identificada uma característica bioquímica do metabolismo do cancro de fígado em ratos, esta característica levou a produção do 5-fluorouracilo (5-FU) que, por sua vez, apresentou atividade terapêutica em diversos tipos de tumores. (15,16)

Um grande avanço para a quimioterapia foi marcado pela descoberta da atividade dos alcaloides presentes na planta *Catharanthus roseus*, denominados por vincristina. Esta descoberta permitiu concluir que combinações de vários compostos poderiam ser mais eficazes do que usados separadamente, surgindo deste modo o primeiro programa de tratamento administrado ciclicamente, o programa VAMP (Vincristina, Ametofterina, 6-Mercaptopurina, Prednisona). Este programa foi testado num grande número de crianças com leucemia, obtendo resultados promissores na remissão do cancro. Foram desenvolvidos outros programas quimioterapêuticos, como o MOMP (mostarda nitrogenada, vincristina, metotrexato, prednisona) e MOPP (mostarda nitrogenada, vincristina, procarbazona, prednisona), utilizados no tratamento do linfoma de Hodgkin, cujos resultados eram bastante promissores na remissão da doença. Os resultados obtidos nos programas MOMP e MOPP foram apresentados em meados de 1965 e o estudo MOPP foi publicado em 1970, sendo o artigo mais citado até à atualidade. Ainda

em 1970, o linfoma de Hodgkin foi o primeiro exemplo de cancro curado com quimioterapia. (15,16)

A investigação na área da quimioterapia expandiu e a indústria farmacêutica estava cada vez mais interessada em investir neste campo, o que levou à descoberta de muitas outras classes de fármacos usados no tratamento do cancro. Os anticorpos monoclonais, aquando da sua descoberta, mostraram ser eficazes no tratamento do cancro, como por exemplo o trastuzumab no tratamento do cancro da mama, cetuximab e bevacizumab no cancro colorretal e rituximab no tratamento do linfoma não Hodgkin. (15,16)

A descoberta de oncogenes, oncogenes supressores e vias de sinalização promoveu a identificação da maioria dos novos alvos terapêuticos, levando deste modo a quimioterapia para a fase da terapia direcionada. O primeiro exemplo de terapia direcionada consiste no desenvolvimento do imatinib, que tem por função inibir a tirosina cinase, aplicado no tratamento da leucemia mielóide crónica. (15,16)

A quimioterapia no tratamento do cancro é curativa em patologias como linfoma de Hodgkin, linfoma não Hodgkin, leucemia linfoblástica aguda, cancro do pulmão de pequenas células e cancro do ovário. No caso da pediatria, os cancros nos quais a quimioterapia mostrou-se eficaz na remissão total da doença, são a leucemia aguda e linfoma de Burkitt. O rápido desenvolvimento de agentes citotóxicos e biológicos traz a expectativa de que a lista das patologias oncológicas efetivamente curadas continuará a expandir. (15,16)

Desde 1990 que se tem verificado a diminuição das taxas de mortalidade causadas por cancro, esta diminuição encontra-se relacionada com a prevenção e diagnóstico precoce e também com os avanços na área das terapias anticancerígenas, mais especificamente na quimioterapia. (15,16)

2.5.2. Modalidades da Quimioterapia

Existem diferentes tipos de quimioterapia apresentam diversos objetivos clínicos, deste modo a quimioterapia pode ser:

- **Adjuvante:** Realiza-se após cirurgias, com o objetivo de eliminar células cancerígenas microscópicas, minimizando a recorrência de cancro;

- **Neoadjuvante:** Trata-se de uma modalidade da quimioterapia que é realizada antes à cirurgia, com o intuito de diminuir a carga do cancro a ser removido, contribuindo para um maior sucesso do procedimento cirúrgico;

- **Paliativa:** Terapêutica que visa o controlo e alívio de sintomas de um cancro sem cura. (16)

2.5.3. Classes Terapêuticas da Quimioterapia

Na quimioterapia existem diferentes classes terapêuticas de fármacos citotóxicos, estes atuam segundo uma cinética de primeira ordem, em que uma dose de fármaco irá lesar uma proporção constante de população celular, assim o número de células cancerígenas nunca atingirá o valor de zero. (17)

Os fármacos citotóxicos podem ser divididos de acordo com a sua ação celular, ou seja, estes podem categorizados como agentes específicos de fase ou como agentes não específicos de fase. (17)

Os agentes específicos de fase promovem a sua atividade citotóxica numa determinada fase do ciclo celular (Figura 2.1) e apresentam uma maior eficácia em tumores com grande percentagem de células em divisão. As classes terapêuticas integrantes neste grupo são:

- ✓ Antimetabolitos;
- ✓ Inibidores Mitóticos;
- ✓ Inibidores da Topoisomerase;
- ✓ Antibióticos Antineoplásicos. (17)

Os agentes não específicos de fase apresentam maior eficácia em tumores com grande massa tumoral, que têm uma fração de crescimento e índice mitótico baixos. A atividade citotóxica é independente da fase do ciclo celular e as classes terapêuticas pertencentes a este grupo são:

- ✓ Agentes Alquilantes;
- ✓ Metais Pesados. (17)

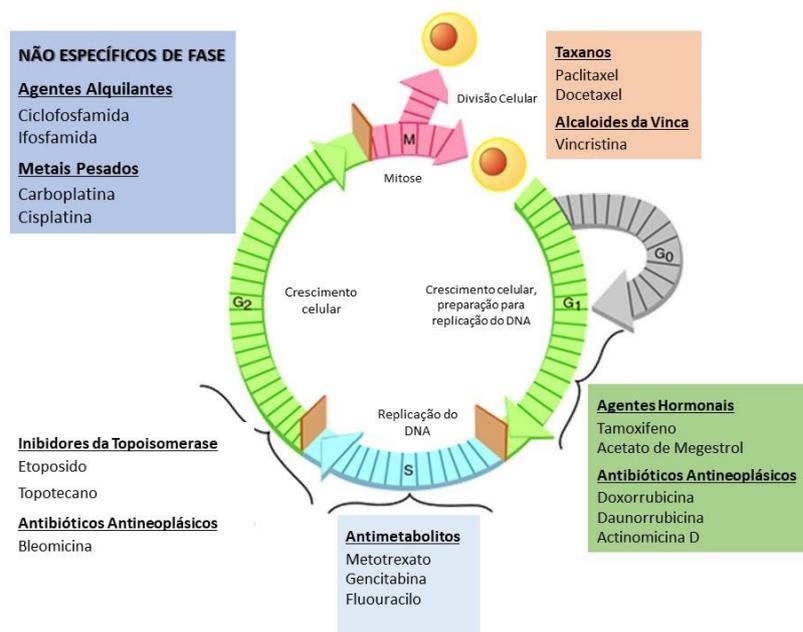


Figura 2.1: Ciclo celular e os determinados agentes citotóxicos (18)

2.5.3.1. Antimetabolitos

Os antimetabolitos (Tabela 2.1) são agentes antineoplásicos semelhantes sob o ponto de vista químico e estrutural aos compostos naturais necessários para a síntese das purinas, pirimidinas e ácidos nucleicos. Estes citotóxicos são específicos da fase S do ciclo celular (Figura 2.1) e podem atuar através de dois mecanismos de ação: inibição das enzimas necessárias para a síntese de DNA e incorporação nas cadeias de DNA ou RNA, provocando a rutura e parando a síntese das mesmas. (19)

Tabela 2.1: Sub-grupos e os respectivos fármacos do grupo terapêutico Antimetabolitos

Subclasses Terapêuticas	Fármacos
Análogos da Purina	Mercaptopurina, Tioguanina
Análogos da Pirimidina	Fluouracilo, Capecitabina, Gencitabina
Análogos do Ácido Fólico	Metotrexato, Pralatrexato

2.5.3.2. Inibidores Mitóticos

São agentes citotóxicos (Tabela 2.2) cuja atividade depende do ciclo celular, dado que estes fármacos interferem com a fase M do ciclo celular (Figura 2.1), em resultado da sua ligação aos microtúbulos. As subclasses terapêuticas que atuam inibindo a fase M são os alcaloides da vinca e os taxanos. (20)

O mecanismo geral de ação dos alcaloides da vinca é a paragem da mitose celular em metáfase como resultado da sua ligação à tubulina, uma proteína microtubular, interferindo com o equilíbrio entre a polimerização/despolimerização dos microtúbulos, inibindo assim o seu rearranjo e a formação do fuso mitótico. No caso dos taxanos, estes promovem a estabilização dos microtúbulos, impedindo a sua dissociação e como consequência promovendo a interrupção da mitose. (16)

Tabela 2.2: Sub-grupos e os respetivos fármacos do grupo terapêutico Inibidores Mitóticos

Subclasses Terapêuticas	Fármacos
Alcaloides da Vinca	Vincristina, Vimblastina
Taxanos	Paclitaxel, Docetaxel

2.5.3.3. Inibidores da Topoisomerase

A topoisomerase é uma enzima que desempenha um importante papel na replicação e empacotamento do DNA, sendo responsável por aliviar a pressão na estrutura de DNA durante o processo de desenrolamento através da criação de pontos de rutura na cadeia. A topoisomerase do tipo I produz a quebra de uma única cadeia enquanto que a topoisomerase do tipo II promove a quebra da cadeia dupla de DNA. (20)

Os agentes citotóxicos inibidores da topoisomerase (Tabela 2.3), atuam através da inibição destas enzimas (tipo I e II), determinando a paragem das células na interfase S-G2 do ciclo celular (Figura 2.1), impedindo a continuação do ciclo para a fase de mitose. (16)

Tabela 2.3: Sub-grupos e os respectivos fármacos do grupo terapêutico Inibidores da Topoisomerase

Subclasses Terapêuticas	Fármacos
Epipodofilotoxinas	Etoposido, Teniposido
Campotecanos	Irinotecano, Topotecano

2.5.3.4. Antibióticos Antineoplásicos

Os antibióticos antineoplásicos (Tabela 2.4) são derivados antracênicos com um espectro de atividade mais amplo. Atuam através do bloqueio da replicação de DNA por se ligarem e intercalarem entre as bases da cadeia de DNA, promovendo quebra de cadeia e inibindo assim a sua transcrição. (20, 21)

Tabela 2.4: Sub-grupos e os respectivos fármacos do grupo terapêutico Antibiótico Antineoplásicos

Subclasses Terapêuticas	Fármacos
Antraciclinas	Doxorrubicina, Daunorrubicina
Outros	Bleomicina, Actinomicina D

2.5.3.5. Agentes Alquilantes

Os agentes alquilantes (Tabela 2.5) são moléculas altamente reativas que estabelecem ligações covalentes por meio de transferência de grupos alquilo a grupos nucleofílicos de proteínas e ácidos nucleicos que ao estabelecer interações cruzadas entre as duas cadeias ou numa única cadeia de DNA são responsáveis pela sua rutura estrutural, interferindo com a sua síntese e replicação. (16)

Tabela 2.5: Sub-grupos e os respectivos fármacos do grupo terapêutico Agentes Alquilantes

Subclasses Terapêuticas	Fármacos
Mostardas Nitrogenadas	Ciclofosfamida, Ifosfamida
Nitrosureias	Carmustina, Lomustina
Outros	Bussulfano, Dacarbazina, Temozolomida

2.5.3.6. Metais Pesados

Os metais pesados são compostos que são ativados no meio intracelular, formando deste modo intermediários reativos que estabelecem ligações cruzadas com o DNA e interferindo com a sua síntese. Na quimioterapia com metais pesados, são utilizados três tipos de metais: cisplatina, carboplatina e oxaliplatina. (21)

2.5.4. Toxicidade associada à Quimioterapia

Os fármacos utilizados na quimioterapia, idealmente deveriam afetar apenas as células cancerígenas, no entanto são fármacos inespecíficos que acabam por afetar também as células saudáveis, promovendo deste modo efeitos adversos nos doentes tratados com esta modalidade terapêutica. (22)

A toxicidade provocada pelos agentes citotóxicos varia de acordo com o fármaco, a dose, o esquema, horário e via de administração do agente, tal como também de acordo com o estado de saúde do próprio doente. Visto que os efeitos adversos podem comprometer a qualidade de vida dos pacientes, é importante monitorizar e educar os mesmos durante todo o tratamento. (23)

2.5.4.1. Toxicidade gastrointestinal

- **Náuseas e Vômitos:** Este tipo de efeitos adversos podem comprometer de forma grave a qualidade de vida dos doentes tratados com quimioterapia. As náuseas e vômitos normalmente apresentam três fases: a fase aguda, a fase tardia e a fase antecipatória; a fase aguda ocorre dentro de 1 ou 2 horas após a administração do citotóxico e pode ter uma duração até 24 horas, a fase tardia dura mais de 24 horas após a administração do citotóxico e é mais frequente quando são administrados fármacos como a cisplatina, carboplatina e doxorrubicina, por último a fase antecipatória ocorre antes das doses subsequentes. Os sintomas tardios e os antecipatórios são mais difíceis de controlar do que os agudos. (17, 24)

- **Mucosite:** Trata-se de uma complicação frequente da quimioterapia que pode afetar qualquer parte do trato gastrointestinal. Caracteriza-se como sendo uma inflamação aguda da mucosa que promove lesões dolorosas, podendo comprometer a nutrição e

higiene oral do paciente, aumentando ainda o risco de infecção local. Perante uma mucosite grave, pode ser necessário alterar a dose do citotóxico administrado. (25)

- **Diarreia:** A prevalência e severidade da diarreia dependem do regime de administração dos agentes citotóxicos. Quanto maior a dose do fármaco administrado, maior a incidência de episódio de diarreia. Regimes terapêuticos que contenham irinotecano e fluoracilo aumentam para 80% a probabilidade de o doente sofrer este efeito adverso. A diarreia interfere com a quimioterapia e está fortemente associada a malnutrição, desidratação, perda de peso, fadiga, hemorroidas e falência renal. (26)

- **Obstipação:** A obstipação é um dos efeitos mais comuns nos doentes com cancro em estado avançado. Pacientes com episódios graves de obstipação podem apresentar outros sintomas como distensão e dores abdominais, fissuras anais e hemorroidas. Os agentes citotóxicos que estão fortemente relacionados aos episódios de obstipação são a cisplatina e os alcaloides da vinca. (26)

2.5.4.2. Toxicidade cardiovascular

A toxicidade cardíaca é um dos efeitos adversos da quimioterapia. Os fármacos citotóxicos que estão diretamente relacionados com problemas cardiovasculares são as antraciclina. Após a administração de antraciclina, estas podem causar sintomas agudos como arritmias, pericardite e miocardite. Estas complicações normalmente são reversíveis e não são dependentes da dose do fármaco e ocorrem durante ou pouco tempo após a infusão do citotóxico. (27)

Os efeitos adversos mais significativos das antraciclina incluem a toxicidade cardiovascular crónica que, por sua vez, consiste em quadros clínicos de disfunção ventricular e insuficiência cardíaca. Estes sintomas surgem durante o primeiro ano após o tratamento com antraciclina, mas podem também surgir 10 ou 20 anos depois. O fator de risco para a toxicidade cardiovascular tardia, é a dose cumulativa de antraciclina, pois cada dose de antraciclina causa morte e alterações estruturais das fibras musculares cardíacas. (27)

Perante os efeitos nocivos cardíacos das antraciclina, foram testadas algumas estratégias de prevenção da toxicidade cardiovascular. Uma das estratégias consiste na

utilização das antraciclinas encapsuladas em lipossomas, cujo alvo terapêutico serão as células cancerígenas, em vez das células cardíacas que não serão afetadas. (28)

2.5.4.3. Alopecia

A alopecia, que se caracteriza por queda de cabelo, é um dos efeitos adversos da quimioterapia que mais causa stress psicológico e problemas de autoestima nos doentes. Este tipo de efeito adverso vai depender do agente citotóxico administrado, da dose, da duração do tratamento e da via de administração. Algumas classes terapêuticas utilizadas na quimioterapia apresentam maior probabilidade de causar alopecia nos doentes, destacam-se deste modo os agentes alquilantes, antraciclinas, antimetabolitos e alcaloides da vinca. As perdas de cabelo podem começar dias ou semanas após o início da quimioterapia. Trata-se de um efeito adverso reversível, visto que entre 2 e 3 meses após a descontinuação da quimioterapia, o cabelo volta a nascer. (29)

2.4.5.4. Neurotoxicidade

Alguns fármacos anticancerígenos, como os alcaloides da vinca e metais pesados, são responsáveis pela neuropatia periférica induzida pela quimioterapia. A neuropatia periférica caracteriza-se pela disfunção de um ou mais nervos do Sistema Nervoso Periférico e está associada a diversos sintomas que afetam as atividades quotidianas dos doentes. Este tipo de toxicidade leva frequentemente à redução da dose dos citotóxicos ou até mesmo à descontinuação da quimioterapia. Os sintomas clínicos causados pela neuropatia periférica consistem na perda sensorial, parestesia, disestesia e, em situações mais graves, dor neuropática. (30)

Os sintomas associados à neuropatia periférica podem continuar a desenvolver-se e progredir durante vários meses, mesmo após a descontinuação da quimioterapia e em alguns casos podem persistir durante anos. Atualmente não existe nenhum tratamento preventivo ou curativo para este tipo de toxicidade associada à quimioterapia. (30)

2.4.5.5. Toxicidade hematológica

Relativamente aos agentes citotóxicos, praticamente todos estes são responsáveis pela depressão da medula óssea, aquando da sua administração. Este tipo de efeito adverso surge entre 7 e 10 dias após a administração do fármaco, mas pode também surgir mais tarde. Antes de cada ciclo da quimioterapia, é necessário proceder à contagem celular no sangue periférico, de modo a averiguar se houve ou não recuperação medular, se não tiver ocorrido recuperação então a dose do agente citotóxico deverá reduzir ou em casos graves o tratamento deverá ser adiado. (17)

A toxicidade hematológica é uma das razões principais para um doente suspender a quimioterapia, pois pode causar anemia, neutropenia e trombocitopenia, caracterizadas respetivamente, pela reduzida produção de glóbulos vermelhos, glóbulos brancos e plaquetas. (30)

Capítulo III – Compostos de Origem Marinha com Ação Anticancerígena Estudados

Apesar da quimioterapia ser um tratamento eficaz para diversos tipos de cancro, a principal barreira associada a esta terapêutica são os inúmeros efeitos adversos. A toxicidade causada pelos fármacos anticancerígenos reduz o desempenho das atividades quotidianas dos doentes e compromete a qualidade de vida. A diminuta tolerabilidade à quimioterapia obriga a reduzir as doses de fármaco ou suspender o tratamento, contribuindo deste modo para o insucesso do tratamento anticancerígeno. Ao longo dos anos, novas estratégias têm sido investigadas para aumentar o sucesso dos agentes citotóxicos, nomeadamente a combinação com compostos de origem natural, cujo objetivo é reduzir a dose de fármaco a ser administrado promovendo assim a redução da toxicidade associada. (31)

Os compostos naturais desempenham um papel muito importante na área de desenvolvimento de agentes citotóxicos visto que podem ser menos tóxicos do que os fármacos anticancerígenos tradicionais, mas igualmente eficazes e com melhores perfis de segurança, e com a vantagem ainda, de poderem ser menos onerosos. Muitos dos fármacos anticancerígenos atualmente disponíveis são derivados da flora terrestre e a contribuição destas fontes não é limitada ao uso direto de metabolitos secundários extraídos, mas também se baseia no uso de estruturas análogas semissintéticas inspiradas nos compostos naturais extraídos de plantas. (32, 33)

Dentro da diversidade dos agentes citotóxicos aprovados entre os anos 1930 e 2012, 67% desses agentes correspondem àqueles que foram extraídos ou cujas estruturas foram inspiradas em compostos naturais. Um número significativo de fármacos anticancerígenos de origem natural, foi obtido de bactérias, metabolitos fúngicos e plantas, no entanto o ambiente marinho tem sido um alvo de investigação nos últimos anos visto que é considerado uma fonte potencial de metabolitos farmacologicamente ativos. (32, 34)

Os oceanos correspondem a cerca de 70% da área total do nosso planeta e são fonte de vários tipos de organismos a partir dos quais é possível obter compostos com estruturas químicas que não se encontram no ambiente terrestre. O ecossistema marinho é uma fonte de novos compostos bioativos que, nos últimos anos, contribuíram para o desenvolvimento de novos ingredientes utilizados nas áreas da cosmética, nutrição e na indústria farmacêutica. A investigação na área dos compostos marinhos expandiu imenso e nos últimos anos as publicações científicas sobre estes compostos utilizados na saúde humana aumentaram significativamente (Figura 3.1). (35)

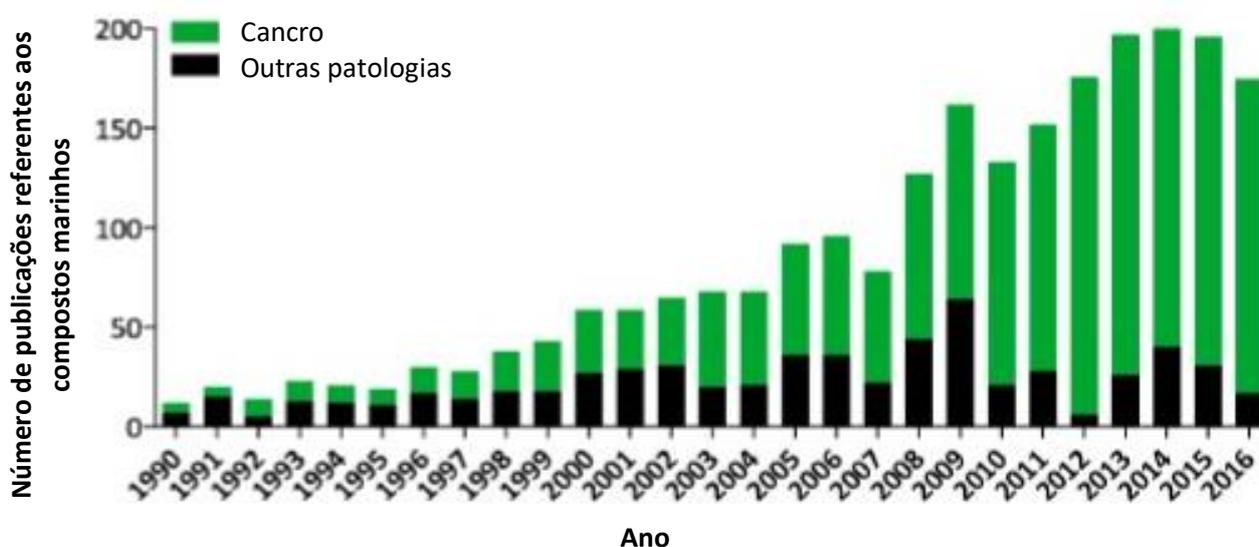


Figura 3.1: Número de publicações científicas sobre os compostos de origem marinha. Adaptado de *Molecules* (35)

Foram descobertos diversos compostos marinhos com diferentes mecanismos de ação que podem ser classificados de acordo com a sua ação farmacológica. Deste modo, as moléculas de origem marinha podem ser agrupadas em classes antibacterianas, anti-inflamatórias, antiparasitárias, antivirais, anticancerígenas, analgésicas e antimalárica. (36)

A maior parte dos organismos vivos que se encontram no habitat marinho, pertencem à categoria dos invertebrados e a investigação na área dos compostos marinhos recai sobretudo nos organismos desta categoria, dado que são um dos grupos mais ricos em termos de diversidade e distribuição. Os principais invertebrados na área da investigação de compostos bioativos pertencem aos filos Porífera e Equinodermos, a partir dos quais são obtidos compostos como os ácidos gordos polinsaturados, péptidos,

proteínas, polissacáridos, polifenóis, saponinas, esteróides, minerais e pigmentos como os carotenoides. (35)

Relativamente ao filo Porífera, neste enquadram-se os organismos marinhos denominados por esponjas. As esponjas encontram-se na maioria dos habitats marinhos e apresentam elevada importância ecológica e farmacêutica. (37, 38)

As espécies pertencentes ao filo Equinodermos são as estrelas do mar, pepinos do mar, lírios do mar e ouriços do mar. Trata-se de espécies que habitam nos substratos marinhos e que podem ou não apresentar um elevado poder de regeneração, como é o caso das estrelas do mar. (39)

3.1. Filo Porífera

As esponjas são consideradas uma das fontes marinhas mais ricas em termos de compostos bioativos, entre todas as substâncias descobertas em habitat marinho até agora, cerca de 30% destas derivam das esponjas. Trata-se de organismos marinhos que não possuem um sistema imunitário inato, os seus mecanismos de defesa baseiam-se na produção de metabolitos que os protegem de outros organismos e permitem também a sua adaptação ao meio ambiente no qual estão inseridos. A diversidade das esponjas traduz-se também numa grande diversidade de moléculas com potencial anticancerígeno. Muitas das substâncias bioativas extraídas das esponjas com interesse farmacológico enquadram-se nos alcaloides, terpenos e terpenoides, ácidos gordos, péptidos, quinonas e esteróides. (33)

3.1.1. Alcaloides

Os alcaloides são compostos químicos com diversas atividades farmacológicas. São substâncias que possuem na sua estrutura átomos de azoto e podem ser extraídos de produtos naturais. O interesse nos alcaloides é devido especialmente aos seus efeitos terapêuticos, como a ação anti-inflamatória, antioxidativa, anticancerígena e até mesmo antiateroesclerótica. (40)

3.1.1.1. Hirtiocarbolina

O hirtiocarbolina (Figura 3.2) é o alcaloide 1-imidazoil-3-carboxi-6-hidroxi- β -carbolina, que foi isolado da esponja marinha *Hyrtilion reticulatus*. Este composto foi testado em 13

linhagens celulares e demonstrou atividade antiproliferativa em três das linhagens celulares testadas, sendo as células do pulmão H522-T1, células MDA-MB435 do melanoma e células U937 do linfoma, aquelas onde foi observada atividade do alcaloide em questão. O alcaloide hirtiocarbolina demonstrou também citotoxicidade e perturbação na estrutura das células cancerígenas do cancro do colo do útero (HeLa). (41,42)

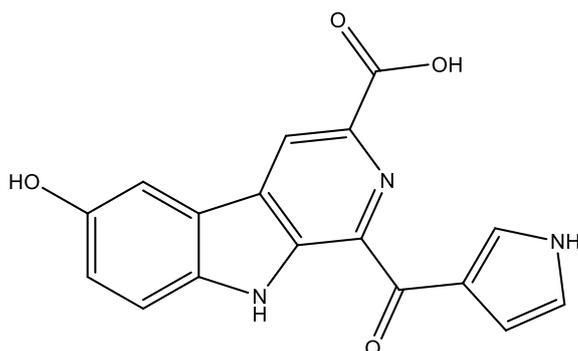


Figura 3.2: Estrutura de hirtiocarbolina (41)

3.1.1.2. Agelastatina A

Agelastatina A (Figura 3.3) é um alcaloide que foi isolado da esponja marinha *Agelas dendromorpha*, este apresenta uma estrutura tetracíclica e demonstrou atividade citotóxica em algumas linhagens celulares. A atividade deste composto é um foco de investigação para compreender não só o seu mecanismo de ação, mas também o respetivo alvo terapêutico. O mecanismo de ação de agelastatina A que explica a sua toxicidade em determinadas linhagens celulares, baseia-se na ligação deste alcaloide ao centro peptidiltransferase (PTC) dos ribossomas, inibindo deste modo o processo de alongação que ocorre na síntese proteica e inibe, conseqüentemente, a síntese de proteínas. (43)

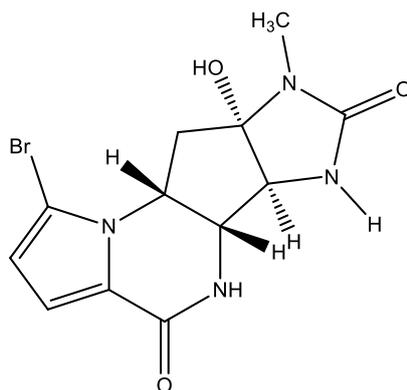


Figura 3.3: Estrutura de agelastatina A (43)

3.1.1.3. Aaptamina

A Aaptamina (Figura 3.4) é um alcaloide que foi extraído das esponjas pertencentes ao género *Aaptos*, este alcaloide apresenta também dois derivados a demetil(oxi)aaptamina (Figura 3.5) e a isoaptaamina (Figura 3.6). (44)

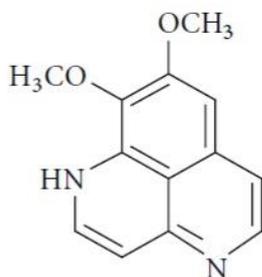


Figura 3.4: Estrutura de aaptamina (44)

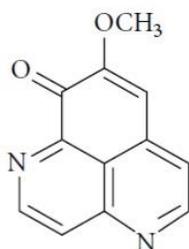


Figura 3.5: Estrutura de demetil(oxi)aaptamina (44)

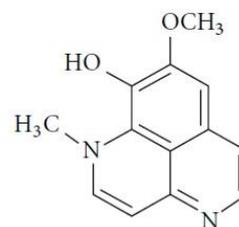


Figura 3.6: Estrutura de isoaptaamina (44)

Estes alcaloides em diversos estudos evidenciaram ação anticancerígena e para entender o seu mecanismo de ação, foram estudados os efeitos que estes alcaloides têm sobre a proteína ativadora 1 (AP-1) e sobre o fator nuclear kappa B (NF-κB). Os fatores de transcrição AP-1 e NF-κB estão relacionados com regulação de diversos processos celulares e com a indução da apoptose, pelo que foi demonstrado que o alcaloide aaptamina e os seus respetivos derivados, têm uma ação indutora destes fatores de transcrição, o que conseqüentemente, leva à apoptose celular. (44)

3.1.2. Esteróides

Os esteróides são compostos que podem ser encontrados nas membranas celulares de diversas espécies de plantas, animais e microrganismos. São essenciais para manter os processos fisiológicos estruturais dos diversos organismos e são também precursores de vitaminas e hormonas, pelo que alterações na composição de esteróides podem desencadear diversas patologias. Estes compostos também são um foco de investigação dado que apresentam ação terapêutica anti-inflamatória, antioxidante, anticancerígena e neuromoduladora. (45)

3.1.2.1 Manadosterol

A partir da esponja *Lissodendryx fibrosa* na Indonésia, foram extraídos dois tipos de esteróis, o manadosterol A (Figura 3.7) e manadosterol B (Figura 3.8). Estes compostos apresentaram atividade inibitória na formação do complexo Ubc13-Uev1A, que por sua vez pode ser uma vantagem para um agente citotóxico. (46)

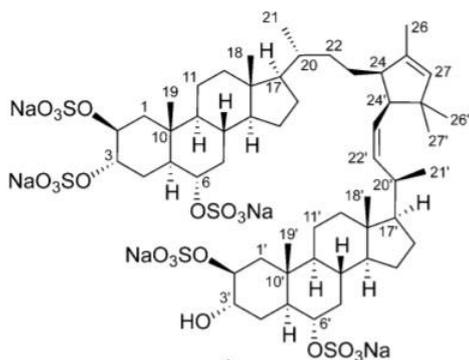


Figura 3.7: Estrutura de manadosterol A (46)

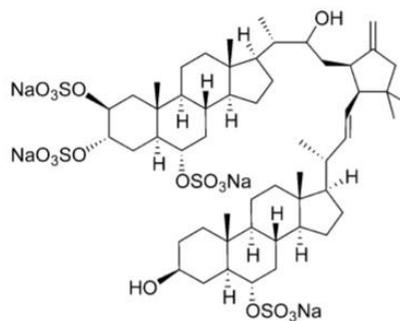


Figura 3.8: Estrutura de manadosterol B (46)

O complexo Ubc13-Uev1A é formado durante a via da ubiquitina-proteossoma. A via da ubiquitina-proteossoma tem como função degradar proteínas durante o ciclo celular e é mediada por três tipos de enzimas, as enzimas ativadoras da ubiquitina (E1), enzimas conjugadoras da ubiquitina (E2) e enzimas ligases (E3). Uma das enzimas conjugadoras da ubiquitina, é a enzima Ubc13, que exerce o seu efeito apenas após complexação com outra enzima conjugadora de ubiquitina, Uev1A. Foi demonstrado que Ubc13 promove a degradação da proteína de tumor p53 e visto que esta enzima apenas exerce o seu efeito após ligação com Uev1A, torna este complexo um alvo terapêutico de agentes citotóxicos. Assim, um agente citotóxico como o manadosterol A ou o

manadosterol B, irá inibir a formação do complexo Ubc13-Uev1A, consequentemente, a proteína do tumor p53 não será degradada e irá manter as suas funções de detecção de danos celulares. (46)

3.1.2.2 Petrosterol-3,6-dione e 5 α ,6 α -epoxi-petrosterol

Trata-se de dois esteróides que foram isolados da esponja marinha *Lanthella* sp. e que foram testados em células cancerígenas dos pulmões, ovários, mama e leucemia. Os resultados da investigação demonstraram que estes esteróides poderiam ser um potencial agente citotóxico no tratamento da leucemia através da indução da apoptose celular. (47)

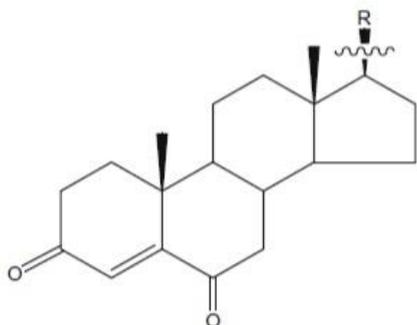


Figura 3.9: Estrutura de petrosterol-3,6-dione (47)

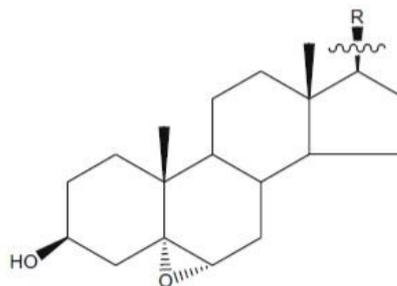


Figura 3.10: Estrutura de 5 α ,6 α -epoxi-petrosterol (47)

3.1.3 Terpenóides

Os terpenóides são uma classe de produtos que representam uma enorme diversidade de estruturas químicas. Podem ser encontrados no meio ambiente terrestre e também em diversas espécies de origem marinha, desempenham um papel importante nas funções básicas dos organismos terrestres e marinhos e são utilizados também a nível da indústria farmacêutica. (48)

3.1.3.1 Sesterpenóide

A heteronemina (Figura 3.11) é um sesterpenóide que é obtido através da esponja do género *Hyrtios*, possui uma estrutura química com diversos grupos funcionais e apresenta também diferentes atividades biológicas tal como também atividade citotóxica. (49)

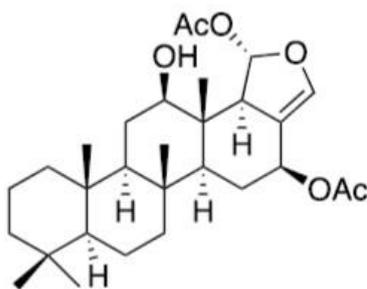


Figura 3.11: Estrutura de heteronemina (49)

O composto heteronemina apresentou ação terapêutica em células cancerígenas de leucemia, cancro da mama e cancro colorretal, porém o seu mecanismo de ação não estava clarificado, pelo que este composto foi testado também em células LNCap do cancro da próstata de forma a analisar a sua toxicidade e perceber o modo de ação do mesmo. (49)

O estudo dos efeitos de heteronemina em células LNCap mostrou que este composto tem uma ação citotóxica sobre as mesmas, através da ativação de um grupo de proteases que degradam proteínas celulares, a caspase 3 que irá clivar a poli ADP-ribose polimerase (PARP), ambas relacionadas com o processo de apoptose celular. Foi também observada a ativação de LC3-II, que é uma proteína envolvida no processo de indução de autofagia celular. Ainda no mesmo estudo foi também demonstrado que o composto heteronemina inibe as funções da enzima topoisomerase II, que está relacionada com a quebra da cadeia dupla de DNA, impedindo deste modo a replicação do mesmo e levando à morte celular. (49)

3.1.3.3 Triterpenóide

A substância stelletina B (Figura 3.12) é um triterpenóide derivado da esponja marinha *Jaspis stellifera*, cuja atividade citotóxica foi testada em células cancerígenas SF295 do cancro cerebral humano. (50)

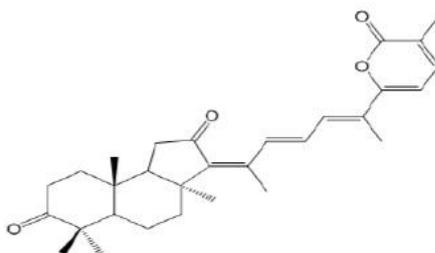


Figura 3.12: Estrutura de stelletina B (50)

O mecanismo de ação deste triterpenóide consiste no aumento da atividade das proteases responsáveis pela degradação de proteínas, a caspase 3 e 7. As caspases 3 e 7 têm uma ação de clivagem sobre a PARP, que é uma família de enzimas responsáveis pela detecção e reparação do DNA, induzindo deste modo a apoptose das células SF295. (50)

3.1.4 Macrólidos

Os macrólidos são compostos que na sua estrutura possuem um anel macrocíclico de lactona e apresentam diversos focos terapêuticos. Podem ser utilizados como antibióticos, antifúngicos, imunossupressores e também como agentes citotóxicos. (51, 52)

3.1.4.1 Pelurosido A

O pelurosido A (PelA) (Figura 3.13) é um metabolito obtido através da esponja *Mycale hentscheli*. Este composto apresenta atividade anticancerígena em células de leucemia mieloide, visto que o seu mecanismo de ação consiste na ligação à tubulina, estabilizando deste modo os microtúbulos e, conseqüentemente, leva ao bloqueio da mitose. (53)

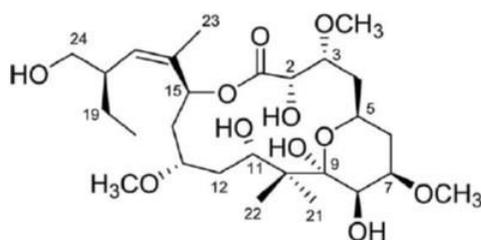


Figura 3.13: Estrutura de pelurosido A (53)

Para além da inibição da mitose, o composto pelurosido A também mostrou atividade no processo de angiogénese, sendo considerado um agente anti-angiogénico dado que inibe a proliferação e migração celular, inibe também a formação de capilares e, conseqüentemente, inibe o crescimento do tumor. (53)

3.1.4.2 Tedanolídeos

Os tedanolídeos são uma família de macrólidos, na qual está incluído o composto 13-deoxitedanolídeo (13-DT) (Figura 3.14) que, por sua vez, é obtido através da esponja marinha *Mycale adhaerens*. (54)

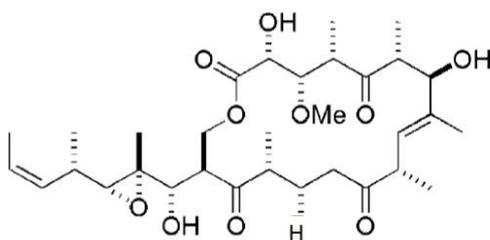


Figura 3.14: Estrutura de 13-deoxitedanolídeo (54)

Este composto demonstrou atividade citotóxica através da ligação à subunidade ribossomal 60S, inibindo desta forma a fase de alongação da síntese proteica. Assim, o composto 13-DT apresenta atividade citotóxica devido à inibição do processo de síntese de proteínas. (54)

3.1.5 Péptidos

Os péptidos são moléculas lineares compostas por aminoácidos (AA) que estabelecem ligações peptídicas entre si. Estes compostos apresentam vantagens que são valorizadas a nível terapêutico, são de tamanho reduzido e conseguem penetrar as membranas celulares, tal como também apresentam alta afinidade, especificidade e seletividade. Para além das características mencionadas, não apresentam interações com outros agentes terapêuticos e a sua toxicidade é reduzida. (55)

3.1.5.1 Arenastatina A

A arenastatina A (Figura 3.15) é um péptido obtido da esponja *Dysidea arenaria* e que apresenta atividade citotóxica nas células cancerígenas do carcinoma humano nasofaríngeo. O mecanismo de ação deste péptido consiste na inibição da estabilização dos microtúbulos e consequentemente bloqueio da mitose. (56)

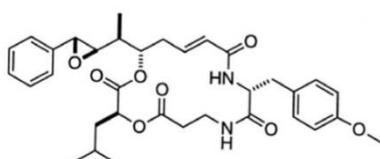


Figura 3.15: Estrutura de arenastatina A (56)

3.1.5.2 Scleritodermin A

O composto scleritodermin A (Figura 3.16) é um péptido encontrado na esponja *Scleritoderma nodosum*. O seu mecanismo de ação baseia-se na inibição da polimerização da tubulina, resultando consequentemente na interrupção da mitose, mostrando-se deste modo eficaz em patologias oncológicas. (57)

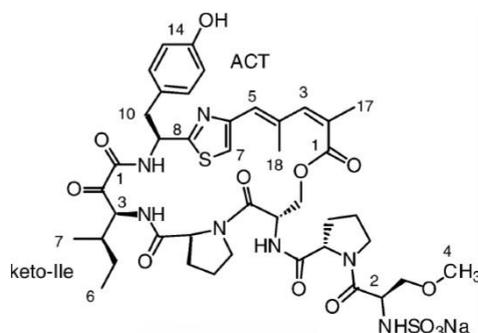


Figura 3.16: Estrutura de scleritodermin A (57)

3.2 Filo Equinodermos

As espécies pertencentes ao filo equinodermos podem ser encontradas em todos os ambientes marinhos e em todas as profundidades dos oceanos. Alguns dos organismos pertencentes a este grupo apresentam um elevado poder de regeneração e são muito utilizados como modelos de estudo dada a diversidade dos seus mecanismos biológicos. Dentro do filo equinodermos existem diversas espécies, entre as quais os pepinos do mar que têm sido um alvo de investigação. Os pepinos do mar têm sido utilizados na área da nutrição, visto que apresentam um elevado valor nutricional mas também têm sido muito explorados pela indústria farmacêutica dada a sua ação terapêutica. Nas diversas espécies de pepinos do mar os metabolitos mais presentes e que apresentam ação bioativa, são as saponinas. (39,58)

3.2.1 Glicósidos Triterpénicos

Os glicósidos triterpénicos ou saponinas, são compostos presentes em diversas espécies de plantas e organismos marinhos. Trata-se de substâncias bioativas com diferentes atividades terapêuticas, entre as quais destacam-se as propriedades citotóxicas e anti-inflamatórias. (59)

3.2.1.2 Cucumariósido A2-2

O glicósido triterpénico cucumariósido A2-2 (Figura 3.18) foi testado em situação de leucemia, demonstrando potente atividade de ativação da apoptose através da supressão do gene supressor de tumor p53. A supressão de p53 vai levar à ativação das enzimas reguladores das funções celulares, as caspases e, conseqüentemente, vai ocorrer indução da apoptose que vai impedir a progressão das células cancerígenas. (61)

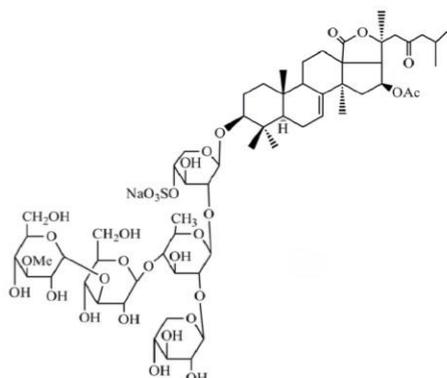


Figura 3.18: Estrutura de cucumariósido A2-2 (61)

3.2.1.3 Ds-echinosídeo A

O composto ds-echinosídeo A (Figura 3.19), obtido do pepino do mar *Pearsonothuria graeffei*, demonstrou atividade citotóxica através da indução da apoptose celular. (62)

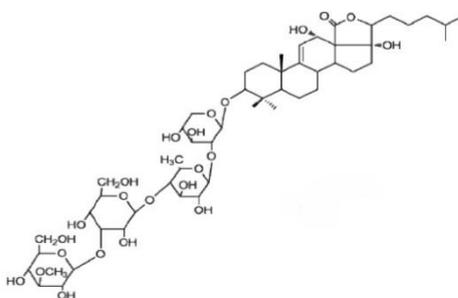


Figura 3.19: Estrutura de ds-echinosídeo A (61)

O mecanismo de ação do composto ds-echinosídeo A não estava clarificado, porém este composto foi testado como inibidor dos alvos proteicos *mouse double minute 2* (MDM2) e recetor C-X-C quimiocina do tipo 4 (CXCR4). O alvo MDM2 é um regulador negativo de p53, em que a inibição de MDM2 irá aumentar o nível de p53, no caso do alvo CXCR4, este está envolvido no controlo da proliferação celular, metastização e angiogénese. O estudo experimental realizado conclui que ds-echinosídeo A apresenta atividade inibitória nestes dois alvos proteicos, esta inibição irá conseqüentemente induzir a apoptose celular. (62)

3.2.1.4 Patagonicosídeo A

O patagonicosídeo A (Figura 3.20), um glicósido triterpénico, obtido do pepino do mar *Psolus patagonicus*, é o composto maioritário da espécie em questão. A sua capacidade citotóxica foi observada durante estudos experimentais, nas linhagens celulares Hep-3B (cancro hepatocelular), MDA-MB231 (cancro da mama) e A549 (cancro do pulmão) em que a ação do composto nas três linhagens celulares mencionadas resultou da supressão do crescimento dos cancros. O mecanismo de ação deste composto consiste na ativação do fator de transcrição NF- κ B e na degradação da proteína I κ B α que, por sua vez, tem por efeito inibir a atividade do fator de transcrição NF- κ B. Assim, a degradação da proteína I κ B α vai aumentar os níveis de NF- κ B, que conseqüentemente, irá promover a apoptose celular. (63)

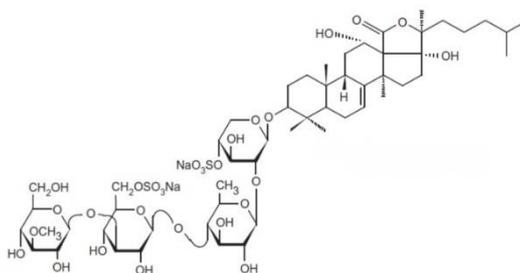


Figura 3.20: Estrutura de patagonicosídeo A (63)

3.2.1.5 Stichoposídeo C

O glicósido triterpénico stichoposídeo C (Figura 3.21), é um composto extraído do pepino do mar *Thelenota anax*, este composto induz a apoptose das células cancerígenas em leucemia e cancro colorretal. O mecanismo de ação deste composto consiste na ativação das caspases promovendo deste modo a apoptose celular. (64)

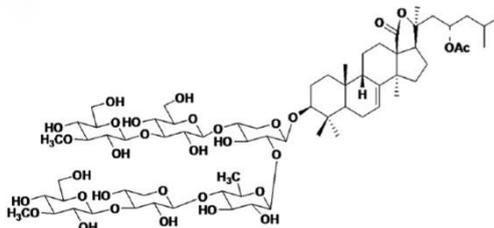


Figura 3.21: Estrutura de stichoposídeo C (64)

Para além do mecanismo mencionado, stichoposídeo C também demonstrou indução da apoptose celular através da produção de ceramida. A ceramida está envolvida na regulação de alguns processos celulares, entre os quais a apoptose e é produzida através da hidrólise de um composto encontrado nas membranas celulares dos animais, a

esfingomiélin. A esfingomiélin é hidrolisada através da família de enzimas denominada por esfingomiélinase (SMase) e estas enzimas encontram-se divididas em enzima alcalina, neutra e ácida. Num estudo experimental, stichoposídeo C apresentou atividade na produção de ceramida, através da ativação das SMase neutras e ácidas. (64)

A figura 3.22 representa um esquema dos mecanismos envolvidos na atividade anticancerígena dos compostos marinhos referidos no presente capítulo.

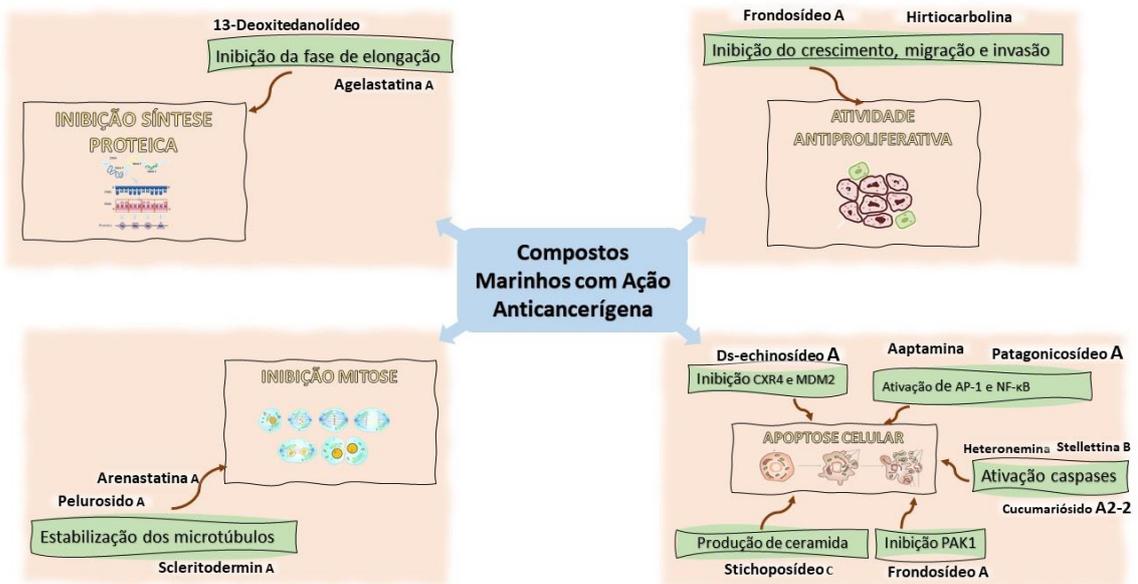


Figura 3.22: Esquema sistemático dos compostos marinhos e os seus respetivos mecanismos de ação

Capítulo IV – Fármacos de Origem Marinha com Ação Anticancerígena Aprovados

O ambiente marinho tem sido foco de grande interesse e investigação pela indústria farmacêutica, visto que se trata de um meio com uma grande diversidade de espécies e estruturas bioativas. A descoberta e desenvolvimento de fármacos de origem marinha deu a conhecer tanto novos mecanismos de ação como também novos alvos terapêuticos para o tratamento das mais variadas patologias. Atualmente 7 fármacos de origem marinha estão aprovados para comercialização, cerca de 23 compostos encontram-se em ensaios clínicos onde é avaliada a sua segurança e eficácia em seres humanos, e mais de 1000 compostos isolados de espécies marinhas estão na fase de estudos pré-clínicos, que consistem em estudo *in vivo* em animais. É de realçar ainda que 4 dos 7 fármacos atualmente aprovados, são de uso no tratamento de patologias oncológicas e têm origem em animais marinhos invertebrados, nomeadamente o Cytosar-U®, Yondelis®, Halaven® e Adcetris®. (35,65,66).

4.1 Citarabina

A citarabina (Ara-C) (Figura 4.1), cujo nome comercial é Cytosar-U®, é um análogo inspirado nos nucleosídeos espongotimidina (Figura 4.2) e espongouridina (Figura 4.3) isolados da esponja marinha *Tethya crypta*. Este composto foi sintetizado por um grupo de investigadores da Universidade de Yale na década de 50 e em 1969 foi aprovado para uso no tratamento de diversos tipos de leucemia. (66)

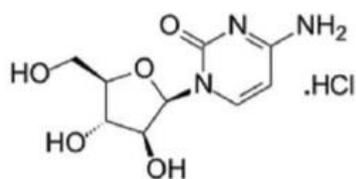


Figura 4.1: Estrutura de citarabina (66)

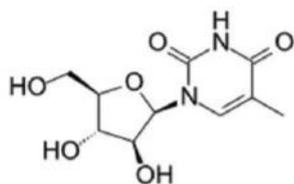


Figura 4.2: Estrutura de espongotimidina (66)

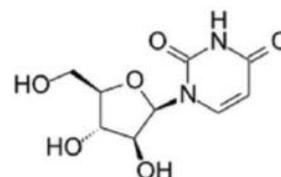


Figura 4.3: Estrutura de esponmouridina (66)

A descoberta de citarabina foi o primeiro passo para o desenvolvimento do mundo dos compostos marinhos utilizados na área de fármacos anticancerígenos. Apesar da estrutura deste fármaco ser um análogo sintético, historicamente Ara-C foi o primeiro fármaco marinho aprovado e comercializado. (66)

Ara-C enquadra-se na classe terapêutica dos agentes citotóxicos específicos de fase do ciclo celular, no sub-grupo dos antimetabolitos. O seu mecanismo de ação (Figura 4.4) consiste na conversão de citarabina para o seu metabolito ativo citarabina-5'-trifosfato, que conseqüentemente vai inibir as enzimas necessárias para a síntese de DNA e irá também incorporar nas cadeias de DNA ou RNA, provocando a rutura das mesmas. (67)

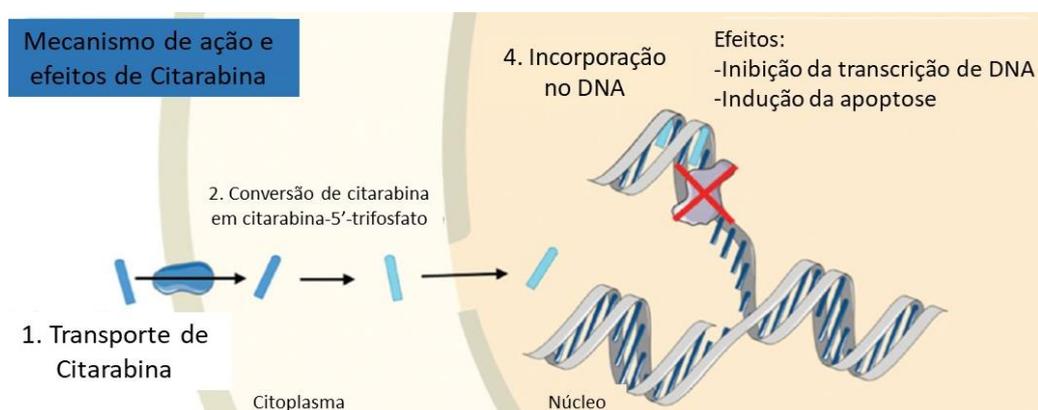


Figura 4.4: Mecanismo de ação de citarabina (66)

4.2 Trabectedina

A Trabectedina (Figura 4.5) é um alcaloide tetrahydroisoquinoloide que foi descoberto em meados de 1960. Este composto foi desenvolvido por uma indústria que se dedica à pesquisa de fármacos marinhos, *PharmaMar*, e em 2007 sobre o nome comercial Yondelis®, trabectedina foi autorizada, para comercialização, pela Agência Europeia de Medicamentos (EMA) (66,68)

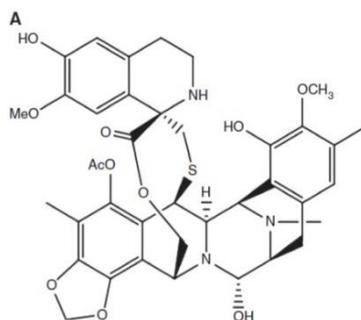


Figura 4.5: Estrutura de trabectedina (67)

O uso de trabectedina destina-se ao tratamento de doentes com sarcoma de tecidos moles, que foram previamente tratados com antraciclinas e ifosfamida, mas que não demonstraram eficácia. Este composto também pode ser utilizado em situações de recaída do cancro dos ovários sensível à platina, em conjugação com outro agente quimioterapêutico, a doxorubicina lipossomal peguilhada (PLD). (69)

O mecanismo de ação de trabectedina é complexo e ocorre através de diferentes vias. Este composto interfere diretamente com a ativação da transcrição de DNA através da colisão com a enzima RNA Polimerase II durante o processo de alongação. A enzima ao ser bloqueada não vai continuar o processo de transcrição e o transcrito vai terminar de forma prematura. A enzima RNA Polimerase é degradada e provoca quebra na cadeia de DNA. (Figura 4.6) (70)

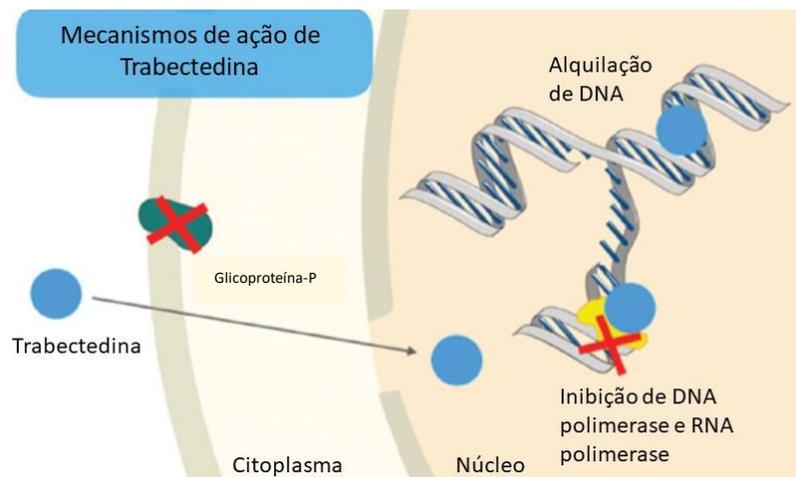


Figura 4.6: Mecanismo de ação de trabectedina (66)

Trabectedina também é um agente alquilante do DNA, o seu mecanismo consiste na ligação aos resíduos de guanina no sulco menor da dupla hélice do DNA, que leva a um dobramento das cadeias de DNA. Este dobramento provocado por trabectedina impede a transcrição de DNA e conseqüentemente a proliferação celular. Este fármaco inibe ainda a o gene de resistência a múltiplas drogas (MDR1) que, por sua vez, é responsável pela produção de glicoproteína-P. A glicoproteína-P é um transportador de efluxo membranar que tem por função exportar para fora da célula toxinas e torná-las resistentes aos fármacos, assim a sua inibição provocada por trabectedina tem por objetivo prevenir esta resistência aos agentes citotóxicos e garantir uma boa resposta ao tratamento. (66,71)

4.3 Mesilato de Eribulina

Mesilato de eribulina (Figura 4.7) é um análogo sintético do macrólido halicondrina B, este macrólido é um composto isolado a partir da esponja marinha *Halichondria okadai*. O composto Halicondrina B foi isolado pela primeira vez em 1985 pelo Instituto de Pesquisa de Eisai e apresentou uma potente atividade anticancerígena. Em 1998 foi sintetizado pela primeira vez o análogo mesilato de eribulina e em 2010, sobre o nome comercial de Halaven®, foi aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA) para tratamento do cancro da mama metastizado. (72)

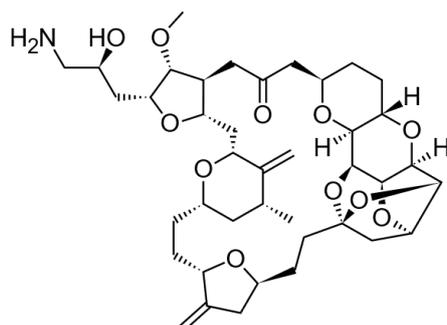


Figura 4.7: Estrutura de mesilato de eribulina (66)

O fármaco mesilato de eribulina enquadra-se na classe terapêutica Inibidores Mitóticos, visto que o seu mecanismo de ação consiste na inibição do crescimento dos microtúbulos na interfase celular. Assim, mesilato de eribulina causa o bloqueio das fases G2/M do ciclo celular (Figura 2.1), provocando a rutura dos fusos mitóticos e consequentemente, a apoptose celular. (72)

4.4 Brentuximab Vedotina

Brentuximab vedotina (Figura 4.8) é um anticorpo monoclonal anti-CD30 ligado através de ligações covalentes ao análogo sintético da dolastatina 10, monometil-auristatina E (MMAE). A dolastatina 10 é um pentapéptido obtido do molusco marinho *Dolabella auricularia*, este composto aquando da sua descoberta demonstrou potente atividade citotóxica, porém não foi aprovado para comercialização. (65,66)

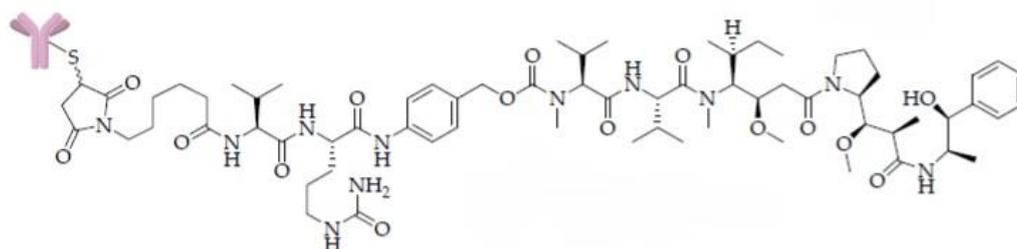


Figura 4.8: Estrutura de brentuximab vedotina (65)

O fármaco brentuximab vedotina foi aprovado em 2011 pela FDA e em 2012 pela EMA, sobre o nome comercial de Adcetris®, para o tratamento de linfoma de Hodgkin e para o linfoma anaplásico de grandes células. (66)

Na situação oncológica de linfoma de Hodgkin e no linfoma anaplásico de grandes células é expressa a proteína CD30 em células tumorais, assim o mecanismo de ação de brentuximab vedotina (Figura 4.9) consiste na ligação do fármaco à proteína CD-30 formando deste modo um complexo. O complexo formado é incorporado no meio intracelular, que sofre uma clivagem proteolítica a partir da qual é libertada a monometil-auristatina E, sendo esta a substância ativa que irá exercer o seu efeito terapêutico. Após a libertação de MMAE, esta irá ligar-se à tubulina e consequentemente, irá inibir o ciclo celular o que irá levar à apoptose das células que expressam a proteína CD30. (73)

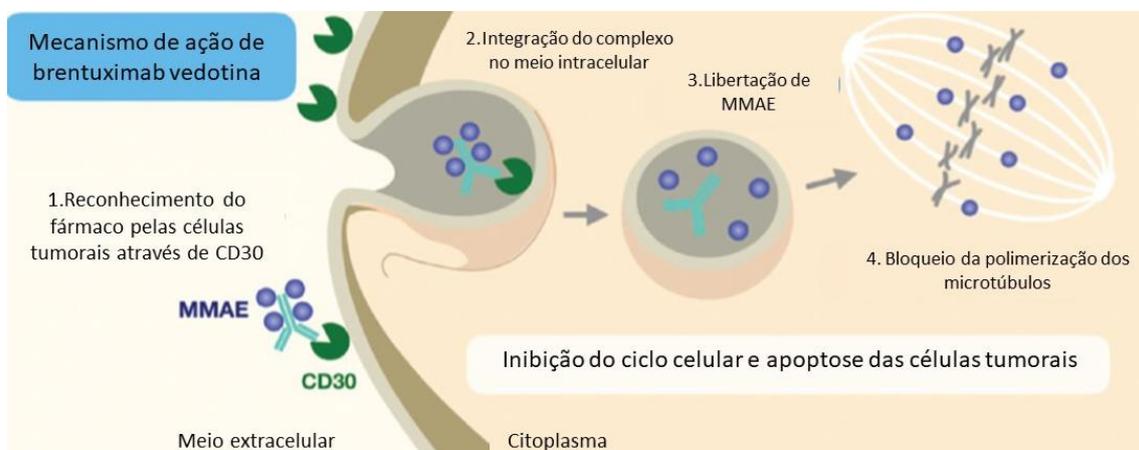


Figura 4.9: Mecanismo de ação de brentuximab vedotina (66)

Capítulo V – Considerações Finais

5.1 Sumário dos compostos abordados

Perante todos os compostos de origem marinha descritos ao longo deste trabalho, e de modo a facilitar a análise dos mesmos, segue uma tabela sistemática (Tabela 5.1) na qual estão agrupados os compostos segundo o seu filo e segundo a sua classe química. Na tabela constam também os nomes das espécies a partir das quais os compostos foram obtidos e os seus mecanismos de ação.

Tabela 5.1: Tabela sistemática de todos os compostos abordados na dissertação

Filo	Classe Química	Composto	Fonte	Mecanismo de ação
Porífera	Alcaloides	Hirtiocarbolina	<i>Hyrtion reticulatus</i>	Atividade antiproliferativa
		Agelastatina A	<i>Agelas dendromorpha</i>	Inibição da fase de alongação na síntese proteica
		Aaptamina	Gênero <i>Aaptos</i>	Indução de AP-1 e NF- κ B
	Esteróides	Manadosterol	<i>Lissodendryx fibrosa</i>	Inibição da formação de Ubc13-Uev1A
		Petrosterol-3,6-dione	<i>Lanthella</i> sp.	Indução da apoptose celular
		5 α ,6 α -epoxi-petrosterol	<i>Lanthella</i> sp.	Indução da apoptose celular
	Terpenóides	Heteronemina	Gênero <i>Hyrtios</i>	Ativação de caspase 3 e LC3-II
		Stelletina B	<i>Jaspis stellifera</i>	Ativação de caspases 3 e 7
	Macrólidos	Pelurosido A	<i>Mycale hentscheli</i>	Ligação à tubulina levando ao bloqueio da mitose
		13-deoxitedanolídeo	<i>Mycale adhaerens</i>	Inibição da fase de alongação na síntese proteica
		Mesilato de Eribulina	<i>Halichondria okadai</i>	Interferência com o crescimento dos microtúbulos
	Péptidos	Arenastatina A	<i>Dysidea arenaria</i>	Inibição da estabilização dos microtúbulos
		Scleritordemin A	<i>Scleritoderma nodosum</i>	Inibição da polimerização da tubulina
Nucleosídeos	Citarabina	<i>Tethya crypta</i>	Inibição da DNA polimerase	
Equinodermos	Glicósidos Triterpénicos	Frondosídeo A	<i>Cucumaria frondosa</i>	Inibição de PAK1
		Cucumariósido A2-2	<i>Cucumaria japonica</i>	Ativação de caspases
		Ds-echinosídeo A	<i>Pearsonothuria graeffei</i>	Inibição de MDM2 e CXR4
		Patagonicosídeo A	<i>Psolus patagonicus</i>	Ativação de NF- κ B
		Stichoposídeo C	<i>Thelenota anax</i>	Produção de ceramida
Mollusca	Péptido	Brentuximab Vedotina	<i>Dolabella auricularia</i>	Anticorpo monoclonar anti-CD30
Cordados	Alcaloide	Trabectedina	<i>Ecteinascidia turbinata</i>	Inibição da transcrição de DNA

5.2 Limitações dos Fármacos de Origem Marinha

A investigação na área dos fármacos de origem marinha encontra-se em constante expansão, dado todo o interesse neste tipo de compostos que trazem características revolucionárias à área da farmacoterapêutica, incluindo a descoberta de novos alvos terapêuticos, novos mecanismos de ação e novos compostos com atividade bioativa a partir dos quais é possível sintetizar análogos com propriedades semelhantes ou ainda mais eficazes. Porém nesta área é necessário também considerar as diversas limitações que existem na pesquisa de compostos marinhos. (35,74)

Uma característica limitante é por exemplo a presença de toxinas e de sais inorgânicos contaminantes provenientes do meio de origem de um determinado organismo, esta característica poderá dificultar o processo de extração do composto de interesse. O meio marinho contém uma enorme diversidade de espécies, porém muitas delas encontram-se em zonas de difícil acesso e em zonas nunca exploradas, sendo esta outra limitação na investigação destes compostos. A disponibilidade de quantidades adequadas do composto em estudo também é uma limitação, dado que para estudos *in vitro* as quantidades necessárias são mínimas, mas em situação de estudos pré-clínicos as quantidades requeridas são muito superiores. Os custos associados a todo o processo de extração e investigação dos compostos marinhos também representa um papel muito importante nesta área, dado que os custos associados à necessidade de modificar estruturas dos compostos naturais com o intuito de aperfeiçoar as suas propriedades são elevados. (35,74)

5.3 Conclusão

O cancro é uma doença cuja incidência e prevalência têm aumentado de dia para dia e cada vez existe uma maior necessidade em compreender os inúmeros mecanismos de ação envolvidos no desenvolvimento desta patologia, identificando deste modo um alvo terapêutico e desenvolver compostos eficazes e seguros para o doente.

Após a descoberta do primeiro fármaco marinho, a Citarabina, o ecossistema marinho trouxe uma diversidade de compostos bioativos cuja aplicação revolucionou as áreas da cosmética, nutrição e indústria farmacêutica. As estruturas isoladas de diversas espécies podem ser utilizadas como agentes terapêuticos e podem também servir de estrutura modelo para a síntese de análogos, aperfeiçoando as características dos mesmos. Os inúmeros compostos marinhos descobertos até à data apresentam diferentes mecanismos de ação farmacológica, podendo ser usados como antibacterianos, anti-inflamatórios, antiparasitários, antivirais, anticancerígenos, analgésicos e antimaláricos.

Dentro do ecossistema marinho os organismos invertebrados são aqueles que apresentam maior diversidade de espécies, distribuição geográfica e também compostos obtidos. Entre os milhares de compostos isolados dos organismos marinhos, apenas uma pequena percentagem chegou aos ensaios clínicos e até à data, apenas 7 fármacos estão aprovados. Porém também é necessário ter em conta que a investigação nesta área começou há cerca de 30 anos e para além disso existem também limitações na investigação destes compostos, entre as quais os custos associados e a constante disponibilidade de quantidades necessárias para os estudos, sem influenciar negativamente a sustentabilidade do meio marinho.

Assim, apesar das limitações existentes na área de fármacos marinhos, a investigação está cada vez mais focada em desenvolver e aplicar novas estratégias, com o intuito de contornar as limitações existentes. A biodiversidade do meio marinho é sem dúvida uma fonte de inúmeros compostos ativos, entre os quais encontram-se os metabolitos que ainda não foram determinados e que poderão revolucionar a área do tratamento cancerígeno.

Referências bibliográficas

- 1: National Cancer Institute; <https://www.cancer.gov/aboutcancer/understanding/what-is-cancer>; Consultado em fevereiro de 2019.
- 2: Organização Mundial de Saúde; <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/cancer>; Consultado em fevereiro de 2019.
- 3: Instituto CUF de Oncologia; <https://www.saudecuf.pt/oncologia/o-cancro/o-que-e-o-cancro>; Consultado em fevereiro de 2019.
- 4: Instituto Nacional de Estatística; https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_indicadores&indOcorrCod=0008281&selTab=tab0&xlang=pt ; Consultado em fevereiro de 2019.
- 5: Serviço Nacional de Saúde; <https://www.sns.gov.pt/noticias/2018/02/02/dados-do-cancro-em-portugal/>; Consultado em fevereiro de 2019.
- 6: Weinberg RA. Coming full circle – From endless complexity to simplicity and back again. *Cell*, 2014; **157**: 267-271.
- 7: Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell*, 2000; **100**: 57-30.
- 8: Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell*, 2011; **144**: 646-674.
- 9: Hanahan D, Weinberg RA. Biological hallmarks of cancer. *Holland-Frei Cancer Medicine*, 2017; **9**: 1-10.
- 10: Li L, Zhao G, Shi Z, Qi L, Zhou L, Fu Z. The Ras/Raf/MEK/ERK signaling pathway and its role in the occurrence and development of HCC. *Oncology Letters*, 2016; **12**: 3045-3050.
- 11: Fouad Y, Aanei C. Revisiting the hallmarks of cancer. *American Journal of Cancer Research*, 2017; **7(5)**: 1016-1036.
- 12: American Joint Committee on Cancer; <https://cancerstaging.org/references-tools/Pages/What-is-Cancer-Staging.aspx>; Consultado em maio de 2019.
- 13: National Cancer Institute; <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/types/surgery>; Consultado de maio de 2019.
- 14: Instituto CUF de Oncologia; <https://www.saudecuf.pt/oncologia/o-cancro/tratamentos-do-cancro>; Consultado em junho de 2019.
- 15: DeVita V, Chu E. History of Cancer Chemotherapy. *Cancer Research*, 2008; **68**: 8643-8653.
- 16: Baudino T. Targeted Cancer Therapy: The Next Generation of Cancer Treatment. *Current Drug Discovery Technologies*, 2015; **12**: 3-20.
- 17: Prontuário Terapêutico Online; <http://m.infarmed.pt/prontuario/Indice.aspx?t=t&c=333>; Consultado em junho de 2019.

- 18: Hoffman B, Schorge J, Schaffer J, Halvorson L, Bradshaw K, Cunningham F, Calver L. (2012). *Williams Gynecology*. 2ª edição. Consultado em junho de 2019, em: <https://accessmedicine.mhmedical.com/book.aspx?bookid=399>.
- 19: Falzone L, Salomone S, Libra M. Evolution of Cancer Pharmacological Treatments as the Turn of the Third Millennium. *Frontiers in Pharmacology*, 2018; **9**: 1300.
- 20: Yang X, Li X, Yuan M, Tian C, Yang Y, Wang X, Zhang X, Sun Y, He T, Han S, Chen G, Liu N, Gao Y, Hu D, Xing Y, Shang H. Anticancer Therapy-Induced Atrial Fibrillation: Electrophysiology and Related Mechanisms. *Frontiers in Pharmacology*, 2018; **9**: 1058.
- 21: Lind MJ. Principles of cytotoxic chemotherapy. *Medicine*, 2011; **39**: 711-716.
- 22: Suspiro A, Prista J. Exposição ocupacional a citostáticos e efeitos sobre a saúde. *Revista portuguesa de saúde pública*, 2012; **30(1)**: 76-88.
- 23: Caley A, Jones R. The principles of cancer treatment by chemotherapy. *Surgery*, 2012; **30**: 186-190.
- 24: Rapoport B. Delayed Chemotherapy-Induced Nausea and Vomiting: Pathogenesis, Incidence, and Current Management. *Frontiers in Pharmacology*, 2017; **8**: 19.
- 25: Cinausero M, Aprile G, Ermacora P, Basile D, Vitale M, Fanotto V, Paris G, Calvetti L, Sonis S. New Frontiers in the Pathobiology and Treatment of Cancer Regimen-Related Mucosal Injury. *Frontiers in Pharmacology*, 2017; **8**: 354.
- 26: McQuade R, Stojanovska V, Abalo R, Bornstein J, Nurgali K. Chemotherapy-Induced Constipation and Diarrhea: Pathophysiology, Current and Emerging Treatments. *Frontiers in Pharmacology*, 2016; **7**: 414.
- 27: Senkus E, Jassem J. Cardiovascular effects of systemic cancer treatment. *Cancer Treatment Reviews*, 2011; **37**: 300-311.
- 28: Monsuez JJ, Charniot JC, Vignat N, Artigou JY. Cardiac side-effects of cancer chemotherapy. *International Journal of Cardiology*, 2010; **144**: 3-15.
- 29: Chon S, Champion R, Geddes E, Rashid R. Chemotherapy-induced alopecia. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 2012; **67**: 37-47.
- 30: Fu B, Wang N, Tan HR, Li S, Cheung F, Feng Y. Multi-Component Herbal Products in the Prevention and Treatment of Chemotherapy-Associated Toxicity and Side Effects: A Review on Experimental and Clinical Evidences. *Frontiers in Pharmacology*, 2018; **9**: 1394.
- 31: Pádua D, Rocha E, Gargiulo D, Ramos AA. Bioactive compounds from brown seaweeds: Phloroglucinol, fucoxanthin and fucoidan as promising therapeutic agents against breast cancer. *Phytochemistry Letters*, 2015; **14**: 91-98.
- 32: Gomes N, Lefranc F, Kijjoa A, Kiss R. Can Some Marine-Derived Fungal Metabolites Become Actual Anticancer Agents? *Marine Drug*, 2015; **13**: 3950-3991.
- 33: Calcabrini C, Catanzaro E, Bishayee A, Turrini E, Fimognari C. Marine Sponge Natural Products with Anticancer Potential: An Updated Review. *Marine Drugs*, 2017; **15**: 310.

- 34: Fang SM, Wu CJ, Li CW, Cui CB. A Practical Strategy to Discover New Antitumor Compounds by Activating Silent Metabolite Production in Fungi by Diethyl Sulphate Mutagenesis. *Marine Drugs*, 2014; **12**: 1788-1814.
- 35: Ruiz-Torres V, Encinar A, Herranz-López M, Pérez-Sánchez A, Galiano V, Barrajon-Catalán E, Micol V. Na Updated Review on Marine Anticancer Compounds: The Use of Virtual Screening for the Discovery of Small-Molecule Cancer Drugs. *Molecules*, 2017; **22**: 1037-1074.
- 36: Malve H. Exploring the ocean for new drug developments: Marine Pharmacology. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 2016; **8**: 83-91.
- 37: Worheide G, Dohrmann M, Erpenbeck D, Larroux C, Maldonado M, Voigt O, Borchellini C, Lavrov DV. Deep Phylogeny and Evolution of Sponges (Phylum Porifera). *Advances in Marine Biology*, 2012; **61**: 1-78.
- 38: Chakraborty C, Hsu CH, Wen ZH, Lin CS. Anticancer Drugs Discovery and Development from Marine Organisms. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 2009; **9**: 1536-1545.
- 39: Reich A, Dunn C, Akasaka K, Wessel G. Phylogenetic Analyses of Echinodermata Support the Sister Groups of Asterozoa and Echinozoa. *PLoS ONE*, 2015; **10(3)**: 1-11.
- 40: Zhang Y, Li M, Zhang T, Qin M, Ren L. Isoquinoline Alkaloids and Indole Alkaloids Attenuate Aortic Atherosclerosis in Apolipoprotein E Deficient Mice: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Frontiers in Pharmacology*, 2018; **9**: 602.
- 41: Inman W, Bray W, Gassner N, Lokey R, Tenney K, Shen Y, TenDyke K, Suh T, Crews P. A β -Carboline Alkaloid from the Papua New Guinea Marine Sponge *Hyrtios reticulatus*. *Journal of Natural Products*, 2010; **73**: 255-257.
- 42: Ye J, Zhou F, Al-Kareef A, Wang H. Anticancer agents from marine sponges. *Journal of Asian Natural Products Research*, 2015; **17**: 64-88.
- 43: Park Y, Liao B. Uncovering the Cellular Target of Agelastatin A. *Cell Chemical Biology*, 2017; **18**: 542-542.
- 44: Dyshlovoy S, Fedorov S, Shubina L, Kuzmich A, Bokemeyer C, Amsberg G, Honecker F. Aaptamines from the Marine Sponge *Aaptos* sp. Display Anticancer Activities in Human Cancer Cell Lines and Modulate AP-1-, NF- κ B-, and p53-Dependent Transcriptional Activity in Mouse JB6 Cl41 Cells. *BioMed Research International*, 2014; **2014**: 1-7.
- 45: Sanjeewa K, Fernando I, Samarakoon K, Lakmal H, Kim EA, Kwon ON, Dilshara M, Lee JB, Jeon YJ. Anti-inflammatory and anti-cancer activities of sterol rich fraction of cultured marine microalga *Nannochloropsis oculata*. *Algae*, 2016; **31(3)**: 277-287.
- 46: Ushiyama S, Umaoka H, Kato H, Suwa Y, Morioka H, Rotinsulu H, Losung F, Mangindaan R, Voogd N, Yokosawa H, Tsukamoto S. Manadosterols A and B, Sulfonated Sterol Dimers Inhibiting the Ubc13-Uev1A Interaction, Isolated from the Marine Sponge *Lissodendryx fibrosa*. *Journal of Natural Products*, 2012; **75**: 1495-1499.
- 47: Tung N, Mihn C, Ha T, Kiem P, Huong H, Dat N, Nhiem N, Tai B, Hyun JH, Kang HK, Kim Y. C₂₉ sterols with a cyclopropane ring at C-25 and 26 from the Vietnamese marine

sponge *Ianthella* sp. and their anticancer properties. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2009; **19**: 4584-4588.

48: Tholl D. Biosynthesis and Biological Functions of Terpenoids in Plants. *Advances in biochemical engineering/biotechnology*, 2015; **148**: 63-106.

49: Lee MG, Liu YC, Lee YL, El-Shazly M, Lai KH, Shih SP, Ke SC, Hong MC, Du YC, Yang JC, Sung PJ, Wen ZH, Lu MC. Heteronemin, a Marine Sesterterpenoid-Type Metabolite, Induces Apoptosis in Prostate LNCap Cells via Oxidative and ER Stress Combined with the Inhibition of Topoisomerase II and Hsp90. *Marine Drugs*, 2018; **16**: 204.

50: Tang SA, Zhou Q, Guo WZ, Qiu Y, Wang R, Jin M, Zhang W, Li K, Yamori T, Dan S, Kong D. *In Vitro* Antitumor Activity of Stellettin B, a Triterpene from Marine Sponge *Jaspis stellifera*, on Human Glioblastoma Cancer SF295 Cells. *Marine Drugs*, 2014; **12**: 4200-4213.

51: Pillozzi S, D'Amico M, Petroni G, Veltroni M, Favre C, Becchetti A, Basso G, Arcangeli A. Macrolide antibiotics exert antileukemic effects by modulating the autophagic flux through inhibition of hERG1 potassium channels. *Blood Cancer Journal*, 2016; **6**: e423.

52: Kanoh S, Rubin B. Mechanisms of Action and Clinical Application of Macrolides as Immunomodulatory Medications. *Clinical Microbiology Reviews*, 2010; **23(3)**: 590-615.

53: Kanakkanthara A, Northcote P, Miller J. Peluroside A: a lead non-taxoid-site microtubule-stabilizing agent with potential activity against cancer, neurodegeneration, and autoimmune disease. *Natural Product Reports*, 2016; **33(4)**: 549-561.

54: Nishimura S, Matsunaga S, Yoshida M, Hirota H, Yokoyama S, Fusetani N. 13-Deoxytedanolide, a marine sponge-derived antitumor macrolide, binds to the 60S large ribosomal subunit. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2005; **13**: 449-454.

55: Marqus S, Pirogova E, Piva T. Evaluation of the use of therapeutic peptides for cancer treatment. *Journal of Biomedical Science*, 2017; **24**: 21.

56: Kang H, Choi MC, Seo CH, Park Y. Therapeutic Properties and Biological Benefits of Marine-Derived Anticancer Peptides. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018; **19**: 919.

57: Schmidt E, Raventos-Suarez C, Bifano M, Menendez A, Fairchild C, Faulkner D. Scleritodermin A, a Cytotoxic Cyclic Peptide from the Lithistid Sponge *Scleritoderma nodosum*, 2004; **67**: 475-478.

58: Janakiram N, Mohammed A, Rao C. Sea Cucumbers Metabolites as Potent Anti-Cancer Agents. *Marine Drugs*, 2015; **13**: 2909-2923.

59: Liu BS, Yi YH, Li L, Zhang SL, Han H, Weng YY, Pan MX. Arguside A: A New Cytotoxic Triterpene Glycoside from the Sea Cucumber *Bohadschia argus* JAEGER. *Chemistry & Biodiversity*, 2007; **4**: 2845-2851.

60: Nguyen B, Yoshimura K, Kumazawa S, Tawata S, Maruta H. Frondoside A from sea cucumber and nymphaeols from Okinawa propolis: Natural anti-cancer agents that selectively inhibit PAK1 *in vitro*. *Drug Discoveries & Therapeutics*, 2017; **11(2)**: 110-114.

- 61: Li YX, Himaya S, Kim SK. Triterpenoids of Marine Origin as Anti-Cancer Agents. *Molecules*, 2013; **18**: 7886-7909.
- 62: Wargasetia T, Permana S, Widodo N. Potential use of compounds from sea cucumbers as MDM2 and CXCR4 inhibitors to control cancer cell growth. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 2018; **16**: 2985-2991.
- 63: Aminin D, Pisyagin E, Menchinskaya E, Silchenko A, Avilov S, Kalinin V. Immunomodulatory and Anticancer Activity of Sea Cucumber Triterpene Glycosides. *Studies in Natural Products Chemistry*, 2014; **41**: 75-94.
- 64: Yun SH, Park ES, Shin SW, Na YW, Han JY, Jeong JS, Shastina V, Stonik V, Park JI, Kwak JY. Stichoposide C Induces Apoptosis through the Generation of Ceramide in Leukemia and Colorectal Cancer Cells and Shows *In Vivo* Antitumor Activity. *Clinical Cancer Research*, 2012; **18(21)**: 5934-5948.
- 65: Pereira R, Evdokimov N, Lefranc F, Valentão P, Kornienko A, Pereira D, Andrade P, Gomes N. Marine-Derived Anticancer Agents: Clinical Benefits, Innovative Mechanisms, and New Targets. *Marine Drugs*, 2019; **17**: 329.
- 66: Jimenez P, Wilke D, Costa-Lotufo L. Marine drugs for cancer: surfacing biotechnological innovations from the oceans. *Clinics*, 2018; **73**: e482s.
- 67: Resumo das características do medicamento DepoCyte®. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/depocyte-epar-product-information_pt.pdf; Consultado em setembro de 2019.
- 68: D'Incalci M, Badri N, Galmarini C, Allavena P. Trabectedin, a drug acting on both cancer cells and the tumour microenvironment. *British Journal of Cancer*, 2014; **111**: 646-650.
- 69: INFARMED, "Relatório de Avaliação Prévia de Medicamento para Uso Humano em Meio Hospitalar." 2010. https://www.infarmed.pt/documents/15786/1424140/ParecerNet_Yondelis.pdf/d24a7b8c-1e86-4ce8-8262-e435fa7cc383 ; Consultado em setembro de 2019.
- 70: Larsen A, Galmarini C, D'Incalci M. Unique features of trabectedin mechanism of action. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 2015; **77**: 1-9.
- 71: Amin L. P-glycoprotein Inhibition of Optimal Drug Delivery. *Drug Target Insights*, 2013; **7**: 27-34.
- 72: Shetty N, Gupta S. Eribulin drug review. *South Asian Journal of Cancer*, 2014; **3**: 57-59.
- 73: Resumo das características do medicamento Adcetris®. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/adcetris-epar-product-information_pt.pdf ; Consultado em setembro de 2019.
- 74: Kanase H, Singh K. Marine Pharmacology: Potential, Challenge, and Future in India. *Journal of Medical Sciences*, 2018; **38(3)**: 49-53.

