

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA

Joseane John Müller

ATIVIDADE ANTINEOPLÁSICA DAS EPOTILONAS

Porto Alegre

2010

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA

Joseane John Müller

ATIVIDADE ANTINEOPLÁSICA DAS EPOTILONAS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial para aprovação das Disciplinas TCCI e TCCII e conclusão da Graduação em Farmácia pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Orientadora: Profa. Dr. Ana Maria Bergold

Co-orientador: Prof. Dr. Pedro Eduardo Fröhlich

Porto Alegre

2010

Agradeço aos meus pais, irmãos, ao meu namorado e aos meus amigos, pela compreensão nos momentos em que estive ausente. Especialmente, agradeço à Professora Ana e ao Professor Pedro pela dedicação e auxílio fundamentais para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

1. Introdução	5
2. Classificação dos antineoplásicos	7
3. Estabilizadores de Microtúbulos	11
4. O Surgimento da Epotilonas	12
5. Relação Estrutura Atividade	13
6. Novas Epotilonas	17
6.1. Ixabepilona	17
6.2. Patupilona	20
6.3. BMS-310705	21
6.4. ABJ-879	22
6.5. Sagopilona	23
6.6. KOS-862	25
6.7. KOS-1584	25
7. Conclusão	27
Referências	29

1. INTRODUÇÃO

Neoplasias malignas representam uma das principais causas de morbidez e mortalidade no Brasil e no mundo.^{1,2} Segundo um estudo do Centro Internacional de Pesquisas contra o Câncer da OMS (Organização Mundial de Saúde), em 2010 o câncer deverá superar as doenças cardiovasculares como primeira causa de mortalidade no mundo. Os casos de câncer dobraram entre 1975 e 2000, e devem duplicar novamente entre 2000 e 2020. Em 2030, o câncer poderá matar 17 milhões de pessoas. O consumo de cigarro, a dieta excessivamente rica em gordura e hábitos alimentares cada vez menos saudáveis favorecem este aumento. Em 2007, foram registrados 12 milhões de novos casos de câncer no mundo e, no total, 7,6 milhões de pessoas morreram. No Brasil cerca de 17% dos óbitos de causa conhecida em 2007 são atribuídos a neoplasias malignas.³

O câncer é uma doença celular, caracterizada por um desvio dos mecanismos de controle da proliferação e diferenciação das células. As células que sofreram transformação neoplásica proliferam excessivamente e formam tumores locais que podem comprimir ou invadir estruturas normais adjacentes.⁴ O diagnóstico precoce associado a tratamentos modernos e eficazes aumenta a possibilidade de cura e prolonga a vida do paciente.⁵ Dentre as modalidades de tratamentos usadas para as neoplasias, a quimioterapia é frequentemente a primeira escolha,⁶ podendo atuar sozinha ou associada à radioterapia e cirurgia, variando de acordo com a gravidade da doença.^{1,7} A quimioterapia, diferentemente da cirurgia e da radioterapia, é utilizada em tratamento sistêmico, ou seja, atua em todo corpo, à base de fármacos que impedem a reprodução celular e, conseqüentemente, levam as células malignas à morte. Estes fármacos podem ser ministrados isoladamente em

monoquimioterapia ou combinados em poliquimioterapia, apresentando assim resultados mais eficazes, pois é possível maior resposta a cada aplicação, diminuindo o risco de resistência aos fármacos e conseguindo atingir as células em diferentes fases do seu ciclo.⁸⁻¹⁰

2. CLASSIFICAÇÃO DOS ANTINEOPLÁSICOS

Os diferentes fármacos utilizados no combate a neoplasias podem ser divididos em ciclo-celular específicos (CCE) e não específicos (CCNE). Os específicos atuam em uma das fases do ciclo celular: G_0 , G_1 , S, G_2 e M (Figura 1). A fase G_1 é caracterizada por expressão de genes e síntese de proteínas para o ADN. Durante a fase S, a célula replica seu DNA possuindo, então, duas fitas de DNA, entrando na terceira fase do ciclo celular: G_2 . Durante a fase G_2 , a célula novamente cresce e sintetiza proteínas necessárias ao processo de divisão celular. Completada esta fase, a célula finalmente entra na quarta fase do ciclo celular: a fase M. A célula passa por um processo denominado citocinese, originando duas células filhas, estando o ciclo celular completo. Quando a célula encontra-se em G_0 ela não está em replicação. Os fármacos CCNE têm a capacidade de exterminar as células tumorais independentemente de estarem atravessando o ciclo ou não.¹¹

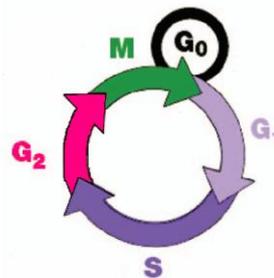


Figura 1: Ciclo de replicação celular esquemático para célula em mitose (adaptado de 12)

Uma das principais maneiras de classificar os quimioterápicos é analisando se há especificidade entre o fármaco e o ciclo de divisão celular (Tabela 1), e em que momento e com que consequências essa relação ocorre (Figura 2).^{5,13-15}

Tabela 1: Classes de antineoplásicos relacionados com o ciclo celular¹²

1. Agentes ciclo-celular específicos (CCS, "Cell Cycle-Specific")	2. Agentes ciclo-celular não específicos (CCNS, "Cell Cycle-NonSpecific")
1.1. Agentes Antimetabólitos	2.1. Produtos Naturais
1.1.a. Análogo do ácido fólico	2.1.a. Antibióticos naturais
1.1.b. Antagonistas das pirimidinas	2.1.a.1. Antraciclinas
1.1.c. Análogos das purinas e inibidores correlatos	2.1.a.2. Mitomicina
1.2. Agentes Hormonais	2.1.a.3. Dactinomicina
1.2.a. Adrenocorticosteróides	2.1.a.4. Plicamicina
1.2.b. Progestinas	2.1.a.5. Bleomicina
1.2.c. Estrogênios	2.1.b. Alcalóides pirrolizidínicos
1.2.d. Androgênios	2.2. Complexos de Coordenação de Platina
1.2.e. Antiestrogênio	2.2.a. Cisplatina (cis-DDP)
1.2.f. Antiandrogênio	2.2.b. Carboplatina (CBDCA)
1.2.g. Análogo do hormônio liberador de gonadotropina	2.3. Agentes Alquilantes Diversos
1.2.h. Inibidor da aromatase	2.3.a. Mostardas nitrogenadas
1.2.i. Inibidor do hormônio peptídico	2.3.b. Nitrossuréias
1.3. Produtos Naturais	2.3.c. Triazenos
1.3.a. Alcalóides vegetais	2.3.d. Alquil sulfonatos
1.3.a.1. Alcalóides da vinca	
1.3.a.2. Podofilotoxinas (Epipodofilotoxinas)	
1.3.a.3. Paclitaxel (Taxol)	
1.3.b. Enzimas	

Os fármacos que não atuam em fases específicas da divisão celular acabam exercendo sua citotoxicidade de outra maneira. Por exemplo, antibióticos como dactinomicina, representando os produtos naturais CCNE, têm a capacidade de ligarem-se à dupla hélice do ADN formando um complexo estável e impedindo que a ARN polimerase realize a transcrição do ADN. Os outros grupos de não específicos – agentes alquilantes e análogos da platina – quando entram em contato com o ADN formam derivados que acabam sendo tóxicos para as células em questão.⁵

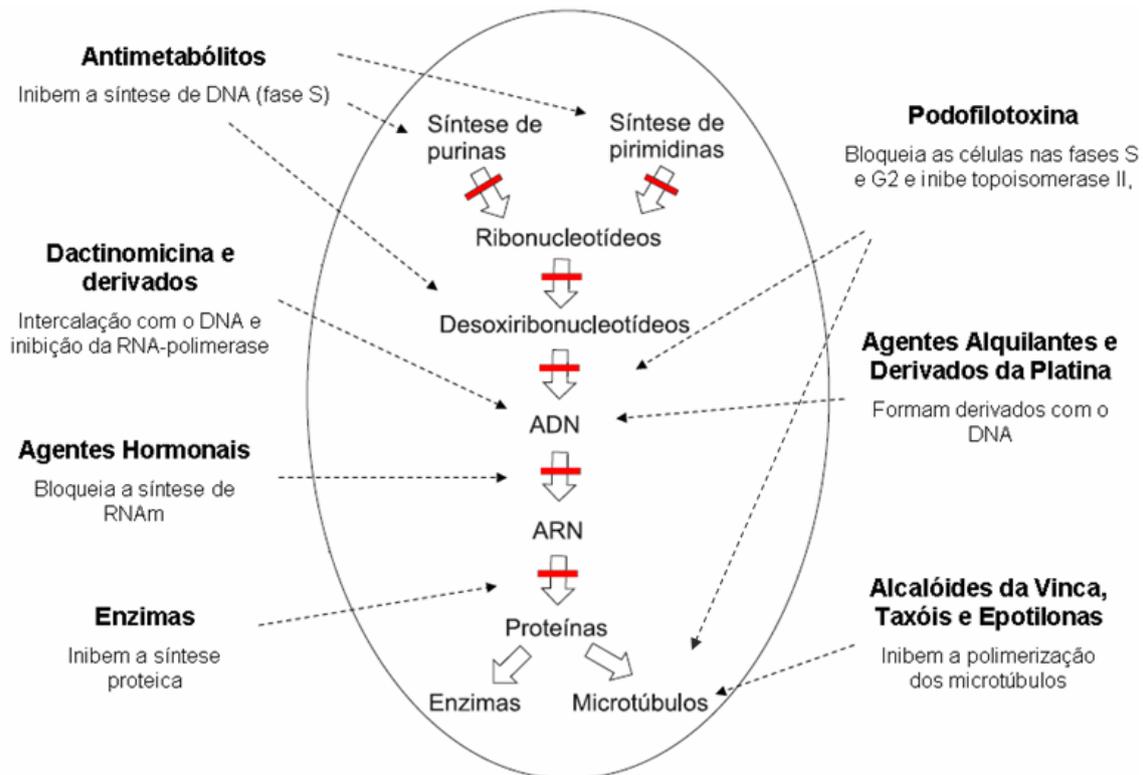


Figura 2: Atuação dos antineoplásicos no ciclo celular (adaptado de 12).

Os antineoplásicos CCE atuam diretamente em uma das fases do ciclo de reprodução celular. Os agentes antimetabólitos exercem seus efeitos principalmente bloqueando bioquimicamente a síntese do ADN e, portanto, são restritos à fase S do ciclo celular. A atividade antitumoral de vários agentes hormonais depende de ligações entre o hormônio e o seu receptor citoplasmático específico. Esta ligação pode bloquear a síntese de ARN mensageiro que, por sua vez, inibe a síntese de novas proteínas importantes para o crescimento e a multiplicação celular. As enzimas, como a L-asparaginase, atuam inibindo a síntese de proteínas, resultando no bloqueio da proliferação celular, pois catalisam a hidrólise de alguns aminoácidos (asparagina, no caso) essenciais para esta síntese. Dentre os alcalóides vegetais temos as podofilotoxinas (ou epipodofilotoxinas), que possuem ação pelo bloqueio das células nas fases S e G2 e inibição da enzima topoisomerase II, o que promove lesão no DNA, e os alcalóides da vinca (vimblastina e vincristina) e derivados do

paclitaxel que, assim como as epotilonas, alvo deste estudo, atuam através da interação com as proteínas microtubulares e, conseqüentemente, interrompem a divisão celular na metáfase, impedindo a citocinese.^{5,14,15}

3. ESTABILIZADORES DE MICROTÚBULOS

Agentes antitumorais que interagem com microtúbulos podem ser agrupados em duas classes funcionais distintas, uma classe de compostos que inibe a polimerização da tubulina e outra classe de compostos que estabiliza os microtúbulos.¹⁶ Assim que a célula entra em um processo de mitose a rede de microtúbulos passa por uma reorganização fundamental, produzindo o fuso mitótico, o alinhamento e a posterior separação das cromátides. Neste contexto os microtúbulos exercem papel fundamental na divisão celular e não é surpreendente que a modulação da função dos microtúbulos tenha grande importância na quimioterapia do câncer.¹⁷

O uso de inibidores de polimerização da tubulina no tratamento do câncer é descrito a partir de 1960 – vincristina e vimblastina receberam aprovação do FDA em 1963 e 1965, respectivamente – e a introdução dos estabilizadores de microtúbulos para a prática clínica ocorreu mais recentemente, por volta da década de 90. O primeiro agente deste grupo a obter a aprovação do FDA foi o paclitaxel (Taxol ®), em 1992, seguido pelo seu análogo intimamente relacionado docetaxel (Taxotere ®), em 1996.¹⁸ Paclitaxel foi originalmente isolado da casca de *Taxus brevifolia* por Wani e colaboradores e sua estrutura foi elucidada em 1971.¹⁹ Em 1979, Schiff & Horwitz identificaram os microtúbulos celulares como alvos moleculares para sua atividade antiproliferativa e esta constatação marcou uma nova era na descoberta de fármacos anticâncer.²⁰

4. O SURGIMENTO DAS EPOTILONAS

Em 1993, uma nova classe de produtos naturais foi isolada por Reichenbach e Höfle,^{21,22} posteriormente um grupo da Merck Research Laboratories demonstrou que o mesmo possuía um mecanismo de ação semelhante ao do paclitaxel.²³⁻²⁵ Epotilona A e epotilona B são os principais representantes desta classe e foram originalmente isolados pela fermentação da micobactéria *Sorangium cellulosum*^{21,26} e, em estudos pré-clínicos indicaram amplo espectro de ação. Apesar de estruturas químicas bastante diferentes epotilonas têm um mecanismo de ação *in vitro* muito semelhante ao do Taxol®. Ambos se ligam à tubulina no mesmo sítio de ação, porém a epotilona B se liga com maior afinidade.^{24,27} Uma importante distinção entre paclitaxel e epotilonas é a capacidade que as epotilonas possuem na inibição do crescimento de linhagens de células multirresistentes²³⁻²⁵ ou resistentes ao próprio paclitaxel, por serem capazes de inibir a glicoproteína-P, a responsável pelo desenvolvimento de resistência aos fármacos.^{24,28} Outra vantagem das epotilonas é que elas têm se mostrado mais solúveis em água que o paclitaxel,²² eliminando assim a necessidade de formulação com adição de diluentes, por exemplo,^{22,29-31} e diminuindo a incidência de efeitos adversos como reações de hipersensibilidade.¹⁸

Inúmeras sínteses totais de epotilonas A e B foram publicadas.^{8,32-36} Ao mesmo tempo, várias centenas de análogos foram preparados e tiveram sua atividade biológica investigada, o que levou a uma compreensão abrangente de relações estrutura-atividade (REA) dos compostos.^{37,38}

5. RELAÇÃO ESTRUTURA ATIVIDADE

Alguns autores estabelecem que a interação de taxanos e epotilonas com o sistema de microtúbulos da tubulina envolve um farmacóforo comum.^{38,39} Forli e colaboradores (2010) realizaram um estudo comparativo entre novos derivados de epotilonas e um modelo farmacofórico. Apesar das diferenças estruturais entre as novas epotilonas e as originalmente empregadas para construção do modelo de um farmacóforo, os resultados mostraram uma concordância excelente. O modo de ligação destas novas epotilonas em comparação com o modelo de farmacóforo levou a previsões de atividade que estavam em concordância com dados experimentais a este respeito.⁴⁰

O modelo farmacofórico comum para taxanos e epotilonas sugere que o anel tiazol da epotilona corresponde ao anel fenila do paclitaxel, da mesma forma que a carbonila do C1 da epotilona corresponde à hidroxila do C2 no paclitaxel e que, o substituinte hidroxilado do C7 (epotilona) corresponde ao oxigênio oxetano do paclitaxel (Figura 3). Substituintes na região C12-C13 de epotilonas também apresentam correspondência com a região C2 e C4 (acetil) da estrutura do paclitaxel.⁴¹

A interação entre β -tubulina e epotilona teve maior importância em regiões lipofílicas associadas a sítios de ligação hidrofóbicos e, principalmente, no grupo hidroxila do C7 e da carbonila do C1, pontos que são cruciais para a atividade das epotilonas.⁴¹

Outra hipótese já havia sido publicada por Patrick e colaboradores (2008) e sugere que, ao invés de um farmacóforo comum, taxanos e epotilonas se ligam à

tubulina por um sítio de ligação “promíscuo” que permite que diferentes moléculas possam se ligar a ele,⁴² porém essa hipótese foi pouco abordada.

A Figura 4 representa as estruturas dos compostos utilizados por Forli para avaliação de atividade conforme mudanças provocadas na estrutura dos derivados de epotilonas.⁴⁰

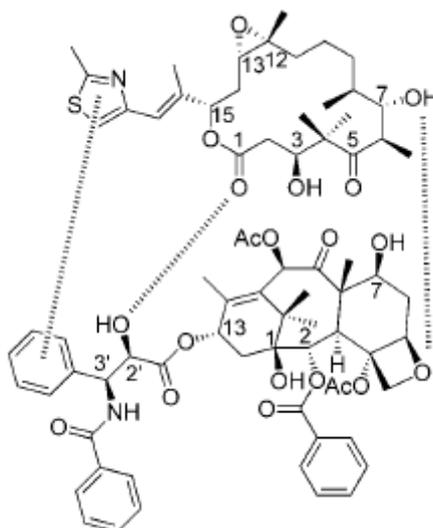


Figura 3: Representação da superposição de epotilona (superior) e paclitaxel (inferior) para análise de modelo de farmacóforo comum.⁴¹

A região C9-C10 é importante para a conformação da macrolactona e alterações neste ponto podem afetar significativamente a atividade antiproliferativa das epotilonas. Há relatos de que a adição de uma ligação dupla *trans* entre os dois átomos de carbono aumenta a atividade antiproliferativa das epotilonas na maioria das linhagens de células observadas.^{43,44} Porém, em estudos realizados com **22** e **23** o oposto foi encontrado. Na verdade, a tensão introduzida pela ligação dupla influencia no alinhamento molecular e na formação de uma ligação de hidrogênio com o grupo hidroxila do C7, resultando em perda de atividade em relação aos compostos saturados, o que se confirma visto que a região da hidroxila do C7 é essencial para atividade antiproliferativa.

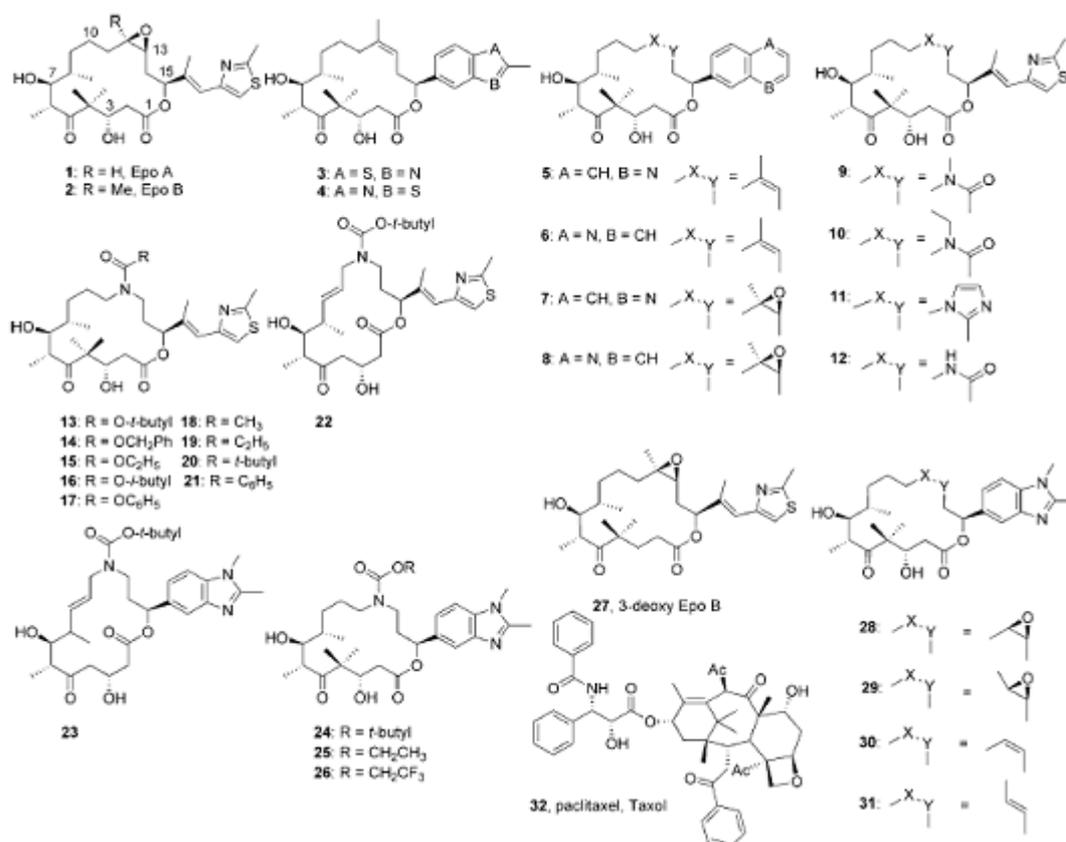


Figura 4: Paclitaxel e derivados de epotilonas para análise de relação estrutura atividade⁴⁰

Os efeitos sobre a energia de ligação, resultantes de alterações na região entre o C12 e o C13, parecem estar relacionadas ao impedimento estérico dos substituintes e à sua lipofilicidade, e não a variações conformacionais do macrociclo. Durante os ensaios as interações de ligação não foram afetadas pela mudança de *cis* para *trans*, nem na situação de epóxido (**28** e **29**) e nem na dupla (**30** e **31**). Porém, a ligação com grupos polares pareceu ser menos tolerada (**9-12**).⁴⁵ Especificamente, derivados das epotilonas que apresentam um grupo metila no C12 são aproximadamente duas vezes mais potentes que epotilona ou paclitaxel (análogos desmetilados).⁴⁶ No entanto, grupos mais volumosos do que metila têm tolerância limitada^{15,47,48} devido ao caráter hidrofóbico da cavidade em que o substituinte do C12 se encaixa. Embora esta região do sítio de ligação fosse capaz

de tolerar um átomo azo-substituído na posição C12 da epotilona, a atividade de cada análogo dependeria do substituinte específico sobre o nitrogênio.

A presença de um epóxido no C12-13 parece não ser necessária para a atividade visto que existem análogos de epotilonas que não possuem o epóxido, mas apresentam potente atividade estabilizadora de microtúbulos *in vitro*.⁴⁹ Com a análise estereoquímica dos isômeros dos compostos, foi visto que o isômero 12R-13R é pelo menos 500 vezes menos ativo do que o 12S-13S.⁵⁰ Substituintes volumosos (**13**, **14**, **16** e **20**) em geral, levaram a uma desestabilização dos complexos modelados, enquanto que **17** e **21** foram completamente incapazes de formar complexos estáveis com o receptor. Além disso, o modelo previu que a atividade de **19** foi subestimada e o efeito antiproliferativo de **15** foi superestimado.

Compostos que apresentam heterociclos fundidos em C15 (**3-8**, **23-26**, **28-31**) mostraram um alinhamento com o receptor muito semelhante ao apresentado por epotilona A (**1**), caracterizada pelo anel tiazol incorporado a uma região próxima às cadeias laterais hidrofóbicas, que também acomoda a fenila no C3' do paclitaxel.

A hidroxila do C3 não apresentou envolvimento em qualquer interação direta com a proteína, sugerindo que não é essencial para a atividade. A remoção deste grupo gerou apenas um efeito limitado sobre a energia de ligação (**27**).⁵¹⁻⁵³

Substituições feitas no C21 dos análogos de epotilonas tiveram como objetivo melhorar a solubilidade do composto.⁵⁴ Uma das modificações mais importantes no macrociclo das epotilonas relatadas até agora, consiste na substituição do oxigênio da lactona pelo nitrogênio,^{55,56} e esta modificação deu origem a um dos análogos mais importantes de epotilonas, que será abordado adiante. Mais recentemente, os trabalhos avaliam a posição C20 e os resultados de atividade antitumoral dos análogos obtidos.^{57,58}

6. NOVAS EPOTILONAS

Os taxanos apresentam limitações significativas, como conferir resistência a tumores através da expressão de glicoproteína-P, risco de reações de hipersensibilidade, baixa solubilidade, toxicidade hematopoiética (dose-dependente), neurotoxicidade, entre outras. Assim, torna-se muito importante a pesquisa e o desenvolvimento de novos fármacos que possam substituir ou complementar a quimioterapia antineoplásica dos taxanos. O uso clínico de epotilonas foi, no entanto, limitado pela farmacocinética e por dificuldades de instabilidade metabólica e, portanto, muitos análogos sintéticos e semi-sintéticos de epotilonas vêm sendo formulados e submetidos a testes que comprovem sua eficácia para superar estes problemas.⁵⁹ Estes compostos demonstram atividade em uma variedade de tumores, incluindo linhagens celulares resistentes aos taxanos.⁶⁰ Epotilona B e seus análogos serão abordados em sequência, mas o mais avançado destes compostos é o BMS-247550 (ixabepilona), que foi o primeiro a obter a aprovação do FDA para tratamento de câncer de mama.⁶¹

6.1 *Ixabepilona (BMS-247550, aza-epotilona B)*

A ixabepilona é um análogo de segunda geração, semi-sintético da epotilona B que atua como indutor da polimerização da tubulina e tem demonstrado atividade antitumoral em estudos recentes, principalmente de câncer de mama.⁵⁶ Ixabepilona surgiu em 2007 como sendo o primeiro representante de bioisosterismo no mercado farmacêutico.⁶² É a primeira epotilona a ser autorizada pelo FDA (Food and Drug Administration) para o tratamento do câncer de mama metastático, em 16 de outubro de 2007.^{63,64} Suas indicações atuais são de metástase de câncer de mama em

casos de reincidência após tratamento com outros agentes quimioterápicos. Pode ser utilizada como monoterapia (após tratamento com paclitaxel, antraciclina ou capecitabina) ou em combinação com capecitabina (após uso de paclitaxel ou antraciclina).⁶³

Ela difere da estrutura natural das epotilonas, pois um átomo de oxigênio é substituído por um átomo de nitrogênio no anel (Figura 5), uma modificação química que melhora a estabilidade metabólica do produto natural, protegendo contra a degradação hepática por esterases. Esta estratégia foi liderada pelo grupo BMS e o análogo originado foi designado BMS-247550 e seria um agente antitumoral altamente promissor. Estudos *in vitro* mostraram que a citotoxicidade de ixabepilona, através da polimerização da tubulina e promoção da parada do ciclo celular, é 2,5 vezes maior do que o paclitaxel e que a atividade é mantida em linhas celulares resistentes a taxóis. Ixabepilona, no entanto, apesar de ter a solubilidade melhorada, precisa ser dissolvida em óleo de rícino polioxiethylado (Cremophor EL).^{31, 56}

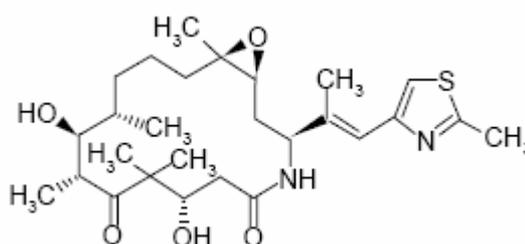


Figura 5: Estrutura molecular da ixabepilona – presença do nitrogênio no anel⁶⁵

Os ensaios clínicos de fase I e II que apresentaram respostas positivas foram os que envolveram pacientes com melanoma, câncer de ovário, câncer de pulmão e de mama. Muitos destes pacientes tinham sido previamente tratados com paclitaxel ou docetaxel. Em vários ensaios, ixabepilona foi administrada em doses diferentes e o aparecimento de reações de hipersensibilidade (RHS) foi dependente da dose administrada; o diluente também é responsável pelo aparecimento de reações de

hipersensibilidade. Quando necessário, foram administradas doses profiláticas de anti-histamínicos (H1 e H2). A dose aprovada pelo FDA não causa RHS, exceto se o paciente já possui predisposição a reações em contato com ixabepilona.⁶⁶ O estudo base para a aprovação da ixabepilona pelo FDA como monoterapia foi um estudo internacional de fase II, multicêntrico, realizado com 126 pacientes com câncer de mama metastático cuja doença era resistente às antraciclinas, taxanos e capecitabina.⁶⁷ Aproximadamente 88% dos pacientes haviam recebido dois ou mais regimes de quimioterapia prévia para a doença metastática. Ixabepilona foi administrada a 40 mg/m² como uma infusão de 3 horas cada 3 semanas. A taxa de resposta global foi de 11,5% e a taxa de resposta parcial foi de 10%. Além disso, 13% tiveram a doença estabilizada por um período de seis meses. Semelhante a outros ensaios, os efeitos indesejáveis foram neutropenia (54%), neuropatia sensorial (14%) e fadiga (14%).⁶⁸

Ixabepilona é farmacocineticamente caracterizada por uma fase de distribuição rápida seguida por uma fase de eliminação mais prolongada.^{69,70} Possui uma meia-vida de aproximadamente 50 horas e tem metabolização hepática via Citocromo P450 (CYP 3A4). Em estudos, 65% da dose são eliminados nas fezes e 21% são excretados na urina. Por causa desta metabolização hepática as doses do fármaco devem ser reduzidas se este for administrado concomitantemente com um forte inibidor de CYP 3A4, como cetoconazol, itraconazol, ritonavir, amprenavir, indinavir, nelfinavir ou voriconazol. Já o uso de fortes indutores do CYP 3A4, tais como a dexametasona, fenitoína, carbamazepina, rifampicina e fenobarbital, podem levar a níveis subterapêuticos de ixabepilona. É importante ressaltar que ixabepilona não induz ou inibe a CYP 3A4 e, portanto, não altera níveis plasmáticos de outros fármacos que são substrato para esta enzima.⁷¹ Os efeitos adversos mais relatados

nos ensaios em monoterapia com ixabepilona foram neutropenia (51 a 59%) e leucopenia (37 a 49%). A neuropatia sensorial é um efeito adverso recorrente com agentes de estabilização de microtúbulos^{72, 73} e a incidência de neuropatia sensorial observada com ixabepilona foi bastante semelhante à relatada para taxóis.⁷² Ixabepilona é contra-indicada em pacientes que apresentem neuropatia pré-existente. A terapia deve ser interrompida aos primeiros sinais de neuropatia e deve ser reiniciada somente quando a neuropatia voltar ao nível basal ou quando a gravidade tenha diminuído para grau 1.

Ixabepilona está disponível comercialmente em kits de 45 mg, cada kit contendo dois frascos contendo o fármaco liofilizado e solvente para a reconstituição. O diluente utilizado com ixabepilona contém Cremophor EL e álcool desidratado. Após a reconstituição com o diluente, a concentração de ixabepilona é de 2 mg/mL. Ajustes de dose são necessárias para doentes com insuficiência hepática. A alteração da dose de ixabepilona usada como monoterapia baseia-se no grau de insuficiência hepática.⁷⁴

6.2 Patupilona (EPO-906)

Patupilona (Figura 6) é até 20 vezes mais potente que paclitaxel contra uma variedade de linhagens celulares *in vitro* e esta atividade é mantida nas linhagens celulares resistentes aos taxóis. Os efeitos indesejáveis mais comuns observados nos estudos foram náuseas, vômitos e fadiga. Em contraste com a ixabepilona, nos ensaios com patupilona não houve neuropatia significativa e nem episódios de mielossupressão. Essa variação entre ixabepilona e patupilona, presumivelmente, se refere à diferença na distribuição de tecidos e no metabolismo dos tecidos. Isso pode, em parte, ser devido ao fato de que patupilona, ao contrário da ixabepilona, é

inativada por estearases que possuem papel importante na determinação de toxicidade.⁷⁵

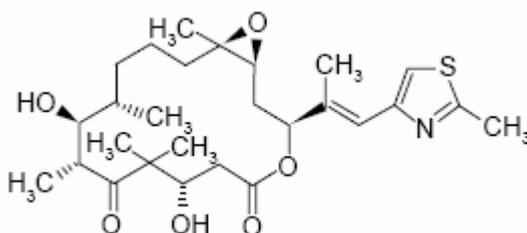


Figura 6: Estrutura molecular da patupilona⁶⁵

Respostas parciais da patupilona em ensaios clínicos de fase I foram observadas em pacientes com câncer de mama, câncer colorretal, câncer no endométrio e câncer de ovário, incluindo pacientes que haviam sido medicados anteriormente com taxóis. Patupilona também apresentou efeitos antitumorais no sistema nervoso central, atravessando a barreira hemato-encefálica. Já os estudos clínicos de fase II avaliaram pacientes com metástases cerebrais de câncer de mama previamente tratados com taxóis e, muitas vezes, com células resistentes aos mesmos. Os resultados foram positivos na estabilização da doença e os efeitos adversos foram modestos.⁷⁶

A eliminação da patupilona é prolongada em humanos e o tempo de meia-vida é de cerca de 4 dias com depuração renal insignificante. Estudos indicam que a presença de uma lactona no C16 impede que o metabolismo seja rápido.⁷⁷

6.3 BMS-310705

Substituições feitas no C21 da epotilona B (figura 7) tiveram como objetivo melhorar a solubilidade do composto em água e apresentaram resultados positivos (BMS-310705).⁵⁵ BMS-310705 é um análogo semi-sintético da epotilona B que

apresenta um grupo amino primário no C21, o que confere maior solubilidade em água que ixabepilona.

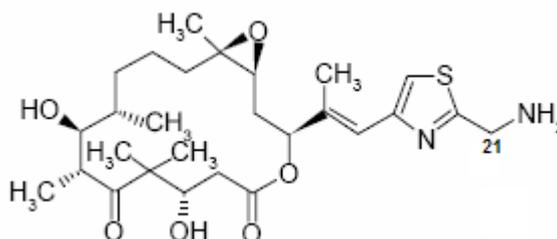


Figura 7: Estrutura molecular do BMS-310705 – modificação no C21⁶⁵

BMS-310705 foi analisado em estudos clínicos de fase I e administrado com segurança e sem a necessidade de medicação prévia (anti-histamínicos); não houve relatos de reações de hipersensibilidade. Os pacientes submetidos ao tratamento eram pacientes com câncer gástrico, de mama e de ovário e todos apresentaram boas respostas. Os efeitos adversos mais relevantes para os pacientes foram diarreia e neurotoxicidade, e foram observados dependendo da dose administrada. A meia-vida de eliminação do fármaco é de cerca de 40 horas. São necessários ainda mais estudos, mas acredita-se que a utilização do BMS-310705 pode ser limitada a alguns pacientes⁷⁸

6.4 ABJ-879

Derivado semi-sintético da epotilona B, indutor da polimerização da tubulina, também apresentou atividade superior ao paclitaxel em vários tipos de linhagens celulares. ABJ-879 permanece ativo *in vitro* contra linhagens multirresistentes, acredita-se que seja pela substituição da metila do C20 da epotilona B por um grupo metilsulfeto (Figura 8), porém, a ausência de estudos clínicos não permite a comprovação desta informação.⁷⁹

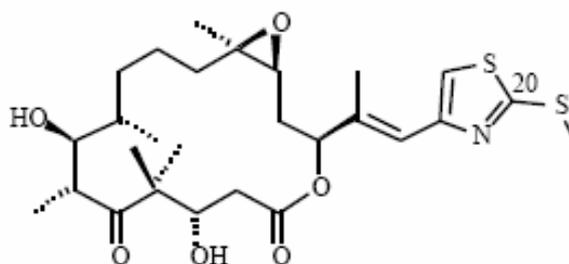


Figura 8: Estrutura molecular do ABJ-879 – modificação no C20.

6.5 Sagopilona (ZK-EPO)

Sagopilona é um derivado da epotilona B de terceira geração, totalmente sintético que foi desenvolvido para otimizar a eficácia e tolerabilidade (Figura 9). *In vitro*, sagopilona é mais potente que taxóis e outros agentes antitumorais. Apresenta atividade citotóxica também quando observado em baixas concentrações. Estudos *in vivo* demonstram atividade antitumoral em pacientes com câncer de cabeça e pescoço, câncer de mama e colorretal. A maioria dos pacientes submetidos ao tratamento já haviam sido submetidos a tratamentos anteriores com taxóis e possuíam resistência a esses fármacos.⁸⁰

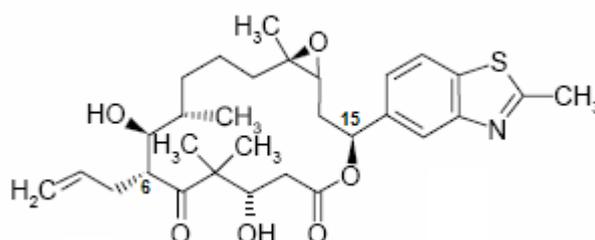


Figura 9: Estrutura molecular do sagopilona – modificações no C6 e no C15⁶⁵

Schmid e colaboradores (2010) realizaram um estudo recentemente para determinação de dose máxima tolerada (DMT), baseado na ocorrência de efeitos adversos limitados pela dose, onde nenhuma toxicidade neuromotora foi relatada. O efeito adverso mais relatado foi neuropatia sensorial periférica e, tanto a incidência quanto a gravidade da neuropatia foram relacionadas com a dose administrada. Este

efeito já era esperado, pois a neuropatia é uma inconveniência relacionada a fármacos que atuam na estabilização de microtúbulos. A incidência e o tipo de neuropatia foram bastante semelhantes ao já relatado na literatura para ixabepilona. Outros efeitos adversos observados foram diarreia, náuseas leves a moderadas e vômitos. É importante salientar que neste estudo não houve administração de fármacos antieméticos como medida profilática. Reações de hipersensibilidade não foram observadas, apesar da ausência de medicação prévia. Essa vantagem da terapia com sagopilona pode ser atribuída a sua superior solubilidade em água, que permite a formulação sem Cremophor EL e indica que sagopilona não possui propriedades intrínsecas de hipersensibilização. Ataxia do sistema nervoso central foi observada em alguns pacientes e pode ser considerada efeito da sagopilona devido à capacidade desta atravessar a barreira hemato-encefálica.⁸¹

A sagopilona possui rápida diminuição das concentrações plasmáticas após o final da infusão e uma fase de distribuição final longa. Considerando o volume de distribuição e a eliminação, provavelmente, sagopilona apresenta uma rápida absorção pelos tecidos e, ao mesmo tempo, uma liberação lenta de sagopilona destes tecidos. Possui meia-vida plasmática que varia de 53 a 83 horas e o perfil farmacocinético da sagopilona parece ser independente da taxa de infusão ou duração da infusão.⁸¹

Com esses dados divulgados por Schmid e colaboradores pode-se afirmar que a administração da DMT de sagopilona estabelecida em 22mg/mL é segura e bem tolerada e é responsável pela estabilização da doença em alguns pacientes e por respostas parciais em outros, um resultado encorajador considerando que o número de usuários amostrados foi pequeno. Atualmente, sagopilona está sendo avaliado em estudos clínicos de fase II.⁸¹

6.6 KOS-862 (*desoxiepotilona*)

Estudos *in vitro* têm sugerido que epotilona D e seus análogos apresentam atividade menor que epotilona B. Pode-se atribuir essa afirmação ao fato de que a região C12-C13 é importante para a conformação da macrolactona das epotilonas e alterações neste ponto podem afetar significativamente a atividade antiproliferativa das mesmas (Figura 10).⁸⁰ KOS-862 é um derivado da epotilona D, que mostrou atividade específica *in vitro* contra células resistentes a taxóis.⁸²

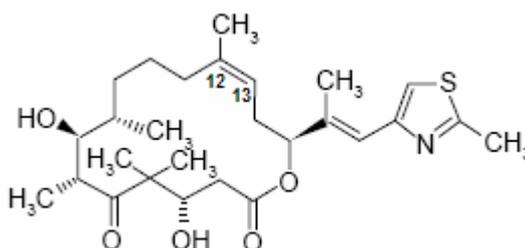


Figura 10: Estrutura molecular do KOS-0862 – modificação na região C12-C13⁶⁵

Em estudos clínicos de fase I, KOS-862, que induz a agregação dos microtúbulos, tem sido utilizado em tratamentos poliquimioterápicos, sendo combinado com fármacos de diferentes mecanismos de ação como a carboplatina e gencitabina. As respostas aos estudos de fase I foram observadas em pacientes de câncer de testículo, ovário, pâncreas e câncer de mama.⁸²⁻⁸⁵ Estudos de fase II para câncer da mama e de próstata têm demonstrado eficácia decepcionante e toxicidade neurológica, incluindo ataxia.^{82, 86, 87}

6.7 KOS-1584

Um outro derivado da epotilona D, o KOS-1584 (Figura 11), tem revelado resultados encorajadores em estudos clínicos, com respostas em câncer de ovário,

cerebral e no pescoço. A diarreia ainda é o principal efeito indesejado e é um fator limitado pela dose.⁸⁷

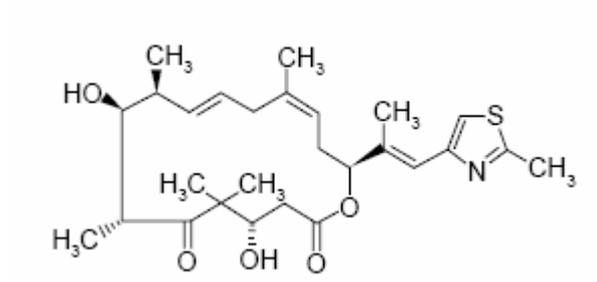


Figura 11: Estrutura molecular do KOS-1584⁶⁵

7. CONCLUSÃO

Muitos agentes promissores que interagem com os microtúbulos estão em diferentes fases de desenvolvimento, os desafios agora estão na avaliação da melhor forma de aplicar esses estudos na terapêutica. A maioria dos compostos analisados neste estudo apresentaram resultados que indicam a atividade antiproliferativa em células de câncer de mama. Além disso, o surgimento de novos derivados aumenta as expectativas para outros tipos de câncer, como colorretal, gástrico, de testículo, de próstata, do endométrio, de ovário e de pâncreas.

Ixabepilona, única epotilona nova já aprovada pelo FDA, apresentou resultados positivos nos estudos relacionados e pode ainda ser superada na sua atividade antiproliferativa, ou na diminuição dos efeitos indesejáveis.

Apesar de a diferença estrutural entre patupilona e ixabepilona envolver apenas um único átomo, há um resultado de quadros clínicos muito diferentes e perfis distintos de toxicidade dependente da dose. Patupilona possui um átomo de oxigênio no anel e é inativada por esterases o que diminui a sua toxicidade celular. Ixabepilona apresentando um átomo de nitrogênio no anel tem sua estabilidade melhorada frente à degradação por esterases hepáticas o que confere aumento da citotoxicidade em comparação com patupilona e paclitaxel. Ixabepilona, no entanto, apresenta entre seus efeitos adversos neutropenia, leucopenia e neuropatia sensorial que não é observada significativamente nos estudos com patupilona. Essa diferença de perfil de toxicidade pode ser útil na análise de combinações com outros regimes em poliquimioterapia.

A modificação na região C12-C13 realizada em KOS-862 deixa clara a importância desta região para a atividade antineoplásica das epotilonas visto que este fármaco apresentou eficácia decepcionante, além de toxicidade neurológica.

A solubilidade em água foi aumentada em dois casos, BMS-310705 com a adição de um grupamento amino primário no C21 e no análogo totalmente sintético sagopilona. Esse fato resulta em uma diminuição das reações de hipersensibilidade visto que estes fármacos podem ser formulados sem adição de Cremophor EL. Diarréia e neurotoxicidade foram efeitos adversos que se mantiveram, mesmo com a modificação na estrutura de BMS-310705. Já na sagopilona os efeitos de toxicidade neuromotora não foram observados, mas a neuropatia sensorial periférica se manteve, além de diarréias, náuseas e vômitos.

Considerando o fato de que o número de diagnósticos de câncer tem aumentado e a importância da interação com microtúbulos na terapia antineoplásica, acredita-se que relacionando os resultados dos estudos já realizados com os resultados que ainda virão, seja muito provável que a classe das epotilonas exerça importância nos tratamentos antineoplásicos, futuramente.

Referências:

1. Sonis, S. T. Mucositis as a biological process: a new hypothesis for the development of chemotherapy-induced stomatotoxicity. *Oral Oncol*, Kidlington, v.34, n.1998, p.39-43, 1998.
2. Silva, A. M. R. Manual de detecção de lesões suspeitas. 2.ed. Rio de Janeiro: Instituto Nacional do Câncer (INCA). Coordenadoria de programas de controle do câncer (pro-onco), 1996. p.07-10
3. Sankaranarayanan, R.; Swaminathan, R.; Brenner, H.; Chen, K.; Chia, K.; Chen, J.; Law, S.; Ahn, Y.; Xiang, Y.; Yeole, B.; Cancer survival in Africa, Asia, and Central America: a population-based study *The Lancet Oncology*, 2009, v.11, Issue 2, p.165-173.
4. Katzung, B. B.; Farmacologia Básica e Clínica, 10. ed. McGraw-Hill Brasil; Rio de Janeiro, 2006. p.579.
5. Chabner, B. A.; Amrein, P. C.; Druker, B. J.; Michaelson, M. D.; Mitsiades, C. S.; Goss, P. E.; Ryan, D. P.; Ramachandra, S.; Richardson, P. G.; Supko, J. G.; Wilson, W. H. Quimioterapia das doenças neoplásicas. In: GOODMAN & GILMAN (Ed.). *As bases farmacológicas da terapêutica*. 11.ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2006. Seção 9. p.1185-1252.
6. Mealey, B. L., Semba S. E., Hallmon W. W., Dentistry and the cancer patient: part 1- oral manifestations and complications of chemotherapy. *Compendium*, Janesburg, v.15, n.10, p.1252-1256, 1994.
7. Korolkovas, A. Agentes Antineoplásicos In: Korolkovas, A. *Dicionário Terapêutico*. 08/09.ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 2008. cap.12, p.12.01-12.27.
8. Carvalho, P.; Tirnauer, J. S.; Pellman, D.; Surfing on microtubule ends. *Trends in Cell Biology*. V.13, 5, 2003, 229.
9. Nicolau, K. C.; Roschangar, F.; Vourloumis, D.; Chemical Biology of Epothilones. *Angew Chem., Int. Ed.* 1998, 37, 2014-2045.
10. Nicolaou, K. C.; Dai, W. M.; Guy, R. K.; Chemistry and Biology of Taxol. *Angew Chem., Int. Ed.* 1994, 33, 15.
11. Souza M. V. N. de. Novos produtos naturais capazes de atuar na estabilização de microtúbulos, um importante alvo no combate do câncer. *Quim. Nova*, Vol. 27, No. 2, 308-312, 2004
12. Almeida, V. L.; Leitão, A.; Reina, L. C. B.; Montanari, C. A.; Donnici C. L.; Lopes, M. T. P. Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não específicos que interagem com o DNA: uma introdução. 2005, *Quim. Nova*, Vol. 28. No 1, p. 118-129.
13. Murad, A.M.; Katz, A.; *Oncologia Bases Clínicas do Tratamento*; Guanabara; Rio de Janeiro, p. 41, 1996.
14. Salmon, S. E. Em *Farmacología Básica & Clínica*, Katzung, B.G., ed.; Guanabara Koogan S.A.: Rio de Janeiro, 1998, p. 629-655.
15. Oliveira, R. B.; Alves, R. J.; Agentes antineoplásicos biorredutíveis: uma nova alternativa para o tratamento de tumores sólidos. *Quím. Nova* [online]. 2002, vol.25, n.6a, pp. 976-984. ISSN 0100-4042. doi: 10.1590/S0100-0422002000600015.
16. Hamel, E. Antimitotic natural products and their interaction with tubulin. *Med Res Rev* 1996; Vol. 16; p. 207-231.
17. Kuppens, I. E. L. M. Current state of the art of new tubulin inhibitors in the clinic. *Curr. Clin. Pharm.* 2006, Vol. 1, p. 57-70.
18. Rowinsky, E. K. The development and clinical utility of the taxane class of antimicrotubule chemotherapy agents. *Ann Rev Med* 1997; Vol. 48; p. 353-374.
19. Wani, M. C.; Taylor, H.L.; Wall, M. E.; Coggon, P.; McPhail, A. T. Plant antitumor agents. VI. Isolation and structure of taxol, a novel antileukemic and antitumor agent from *Taxus brevifolia*. *J Am Chem Soc* 1971; Vol. 93; p. 2325-2327.
20. Schiff, P. B.; Fant, J.; Horwitz, S. B. Promotion of microtubule assembly *in vitro* by taxol. *Nature* 1979; Vol. 277; p. 665-667.
21. Gerth, K.; Bedorf, N.; Hofle, G.; Irschik, H.; Reichenbach, H. Antibiotics from gliding bacteria. 74. Epothilons A and B: antifungal and cytotoxic compounds from *Sorangium cellulosum* (Myxobacteria): production, physico-chemical and biological properties. *J Antibiot* 1996; Vol. 49; p. 560.
22. Hofle, G.; Bedorf, N.; Steinmetz, H.; Schomburg, D.; Gerth, K.; Reichenbach, H. Antibiotics from gliding bacteria. 77. Epothilones A and B--novel 16-membered macrolides with cytotoxic

- activity: isolation, crystal structure, and conformation in solution. *Angew Chem Int Ed Eng* 1996; Vol. 35; p. 1567.
23. Bollag, D. M.; McQueney, P. A.; Zhu, J.; Hensens, O.; Koupal, L.; Liesch, J.; Goetz, M.; Lazarides, E.; Woods, C.M. Epothilones, a new class of microtubule-stabilizing agents with a Taxol-like mechanism of action. *Cancer Res* 1995; 55:2325-2333.
 24. Kowalski, R.J.; Giannakakou, P.; Hamel, E. Activities of the microtubule-stabilizing agents epothilones A and B with purified tubulin and in cells resistant to paclitaxel (Taxol(R)). *J Biol Chem* 1997; Vol. 272; p.2534-2541.
 25. Wolff, A.; Technau, A.; Brandner, G. Epothilone A induces apoptosis in neuroblastoma cells with multiple mechanisms of drug resistance. *International Journal of Oncology* 1997; Vol. 11; p. 123-126.
 26. Hardt, I.H.; Steinmetz, H.; Gerth, K.; Sasse, F.; Reichenbach, H., Höfle, G. New Natural Epothilones from *Sorangium cellulosum*, Strains Soce90/B2 and So ce90/D13: Isolation, Structure Elucidation, and SAR Studies. *J Nat Prod* 2001; vol. 64; p. 847-856.
 27. Kamath, K.; Jordan, M. A. Suppression of microtubule dynamics by epothilone B is associated with mitotic arrest. *Cancer Res* 2003; vol. 63; p. 6026.
 28. Giannakakou, P.; Sackett, D. L.; Kang, Y. K.; Zhan, Z.; Buters, J. T.; Fojo, T.; Poruchynsky, M. S. Paclitaxel-resistant human ovarian cancer cells have mutant β -tubulins that exhibit impaired paclitaxel-driven polymerization. *J Biol Chem* 1997; vol. 272; p. 17118-17125.
 29. Dorr, R. T. Pharmacology and toxicology of Cremophor EL diluent. *Ann Pharmacother* 1994; vol. 28; p. S11.
 30. Rowinsky, E. K. The development and clinical utility of the taxane class of antimicrotubule chemotherapy agents. *Annu Rev Med* 1997; vol. 48; p. 353.
 31. Altmann, K. H.; Wartmann, M.; O'Reilly, T. Epothilones and related structures - a new class of microtubule inhibitors with potent in vivo antitumor activity. *Biochimica et Biophysica Acta* 1470 (2000) M79-M91
 32. Balog, A.; Meng, D.; Kamenecka, T.; Bertinato, P.; Sorensen, E. J.; Danishefsky, S. J. Totalsynthese von EpothilonA *Angew Chem.* 1996, 108, p. 2976 –2978.
 33. Yang, Z.; He, Y.; Vourloumis, D.; Vallberg, H.; Nicolaou, K. C. Total Syntheses of Epothilones A and B via a Macrolactonization-Based Strategy *Angew. Chem.* 1997, 109, 170 – 173; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1997, 36, 166 – 168.
 34. Schinzer, D.; Limberg, A.; Bauer, A.; Böhm, O. M.; Cordes, M. Total Synthesis of (-)-Epothilone A. *Angew Chem.* 1997, 109, p. 543 – 544; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1997, 36, p. 523 – 524.
 35. Harris, C. R.; Danishefsky, S. J. Complex Target-Oriented Synthesis in the Drug Discovery Process: A Case History in the dEpoB Series. *Journal Org. Chem.* 1999, vol. 64, p. 8434-8456.
 36. Nicolaou K. C.; Ritzen, A.; Namoto, K. Recent developments in the chemistry, biology and medicine of the epothilones. *Chem. Commun.* 2001, p. 1523 – 1535.
 37. Wartmann, M.; Altmann, K. H. The Biology and Medicinal Chemistry of Epothilones *Current Medicinal Chemistry - Anti-Cancer Agents*, Vol. 2, Number 1, January 2002 , p. 123-148.
 38. Winkler, J.; Axelson, P. H. A model for the taxol (paclitaxel)/epothilone pharmacophore. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1996, vol. 6, p. 2963 –2966.
 39. Reese, M.; Sanchez-Pedregal, V. M.; Kibicek, K.; Meiler, J.; Blommers, M. J. J.; Griesinger, C.; Carlomagno, T. *Angew. Chem.* 2007, 119, 1896 –1900; *Angew. Chem. Int. Ed.* 2007, 46, 1864 –1868.
 40. Forli, S.; Manetti, F.; Altmann, K. H.; Botta, M. Evaluation of Novel Epothilone Analogues by means of a Common Pharmacophore and a QSAR Pseudoreceptor Model for Taxanes and Epothilones *Chem Med Chem* 2010, 5, 35–40.
 41. Manetti, F.; Forli S.; Maccari, L.; Corelli, F.; Botta, M. 3D QSAR studies of the interaction between β -tubulin and microtubule stabilizing antimitotic agents (MSAA). A combined pharmacophore generation and pseudoreceptor modeling approach applied to taxanes and epothilones *Farmaco*, May 2003, vol. 58, p. 357– 661.
 42. Patrick, G. M.; Monica, N. F. Microtubule Active Agents: Beyond the Taxane *Frontier*, 2008, *Clin Cancer Res* 2008;14(22), p. 7167-7172.
 43. Rivkin, A.; Yoshimura, F.; Fumihiko, G.; Gabarda, A. E.; Cho, Y. S.; Chou, T. C.; Dong, H.; Danishefsky, S.J. Discovery of (*E*)-9,10-Dehydroepothilones through Chemical Synthesis: On the Emergence of 26-Trifluoro-(*E*)-9,10-dehydro-12,13-desoxyepothilone B as a Promising

- Anticancer Drug Candidate, *J. Am. Chem. Soc.* 2004, 126, 10913 – 10922.
44. Chou, T. C.; Dong, H.; Zhang, X.; Tong, W. P.; Danishefsky, S. J. Therapeutic Cure against Human Tumor Xenografts in Nude Mice by a Microtubule Stabilization Agent, Fludelson, via Parenteral or Oral Route, *Cancer Res.* 2005, 65, 9445 –9454.
 45. Feyen, F.; Gertsch, J.; Wartmann, M.; Altmann, K. H. Design and Synthesis of 12-Aza-Epothilones (Azathilones) -Non-Natural-Natural Products with Potent Anticancer Activity *Angew. Chem.* 2006, 118, p. 6013 –6017; *Angew. Chem. Int. Ed.* 2006, 45, p. 5880– 5885.
 46. Nicolaou, K. C.; Vourloumis, D.; Li, T.; Pastor, J.; Winssinger, N.; Je, T.; Ninkovic, S.; Sarabia, F.; Vallberg, H.; Roschangar, F.; King, P. N.; Finlay, M. R. V.; Giannakakou, P.; Verdier-Pinard, P.; Hamel, E. Designed Epothilones: Combinatorial Synthesis, Tubulin Assembly Properties, and Cytotoxic Action against Taxol-Resistant Tumor Cells *Angew. Chem.* 1997, 109, 2181 –2187; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1997, vol. 36, p. 2097 – 2103.
 47. Gurrath, M.; Müller, G.; Höltje, H. D. Pseudoreceptor modelling in drug design: applications of Yak and PrGen *Perspect. Drug Discovery Des.* 1998, 12–14, p.135 –157.
 48. Nicolaou, K. C.; Scarpelli, R.; Bollbuck, B.; Werschkun, B.; Pereira, M. M. A.; Wartmann, M.; Altmann, K. H.; Zaharevitz, D.; Gussio, R.; Giannakakou, P. Chemical synthesis and biological properties of pyridine epothilones, *Chem. Biol.* 2000, 7, 593 –599.
 49. Nicolaou, K. C.; Winssinger, N.; Pastor, J.; Ninkovic, S.; Sarabia, F.; He, Y.; Vourloumis, D.; Yang, Z.; Li, T.; Giannakakou, P.; Hamel, E. Synthesis of epothilones A and B in solid and solution phase. *Nature* vol. 387, p. 268-272, 1997.
 50. Altmann, K.H.; Bold, G.; Caravatti, G.; Denni, D.; Flörsheimer, A.; Schmidt, A.; Rihsc, G.; Wartmann, M. The total synthesis and biological assessment of trans-epothilone A. *Helv Chim Acta* 2002; vol. 85, p. 4086-4110.
 51. Cachoux, F.; Isarno, T.; Wartmann, M.; Altmann, K. H. Total Synthesis and Biological Assessment of Benzimidazole-Based Analogues of Epothilone A: Ambivalent Effects on Cancer Cell Growth Inhibition, *Angew. Chem.* 2005, 117, p.7636–7640; *Angew. Chem. Int. Ed.* 2005, 44, p. 7469 –7473.
 52. Sefkow, M.; Kiffe, M.; Schummer, D.; Hofle, G. Oxidative and reductive transformations of epothilone A *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1998, vol. 8, p. 3025 –3030.
 53. Erdolyi, M.; Pfeiffer, B.; Hauenstein, K.; Fohrer, J.; Gertsch, J.; Altmann, K. H.; Carlomagno, T. *Conformational Preferences of Natural and C3-Modified Epothilones in Aqueous Solution.* *J. Med. Chem.* 2008, 51, 1469 –1473.
 54. Lee, F.Y.; Vite, G.; Hofle, G. The discovery of BMS-310705: A water-soluble and chemically stable semisynthetic epothilone possessing potent parenteral and oral antitumor activity against models of taxane-sensitive and –resistant human tumors in vivo. *Proc Am Assoc Cancer Res* 43:a3928, 2002
 55. Borzilleri, R.M.; Zheng, X.; Schmidt, R.J.; Johnson, J.A.; Kim, S.H.; DiMarco, J.D.; Fairchild, C.R.; Gougoutas, J.Z.; Lee, F. Y. F. A Novel Application of a Pd(0)-Catalyzed Nucleophilic Substitution Reaction to the Regio- and Stereoselective Synthesis of Lactam Analogues of the Epothilone Natural Products. *J Am Chem Soc* 2000; 122: 8890-8897.
 56. Lee, F.Y.; Borzilleri, R.; Fairchild, C.R.; Kim, S.H.; Long, B.H.; Suarez, C. BMS-247550: A novel epothilone analog with a mode of action similar to paclitaxel but possessing superior antitumor efficacy. *Clin Cancer Res* 2001; 7: 1429-1437.
 57. Nicolaou, K. C.; Ritzen, A.; Namoto, K.; Ruben, M. B.; Diaz, F.; Andreu, J. M.; Wartmann, M.; Altmann, K. H.; O'Brate, A.; Giannakakou, P. Chemical synthesis and biological evaluation of novel epothilone B and trans-12, 13-cyclopropyl epothilone B analogues. *Tetrahedron* 2002; 58: 6413-6432.
 58. Wartmann, M.; Loretan, J.; Reuter, R.; Hattenberger, M.; Muller, M.; Vaxelaire, J. Preclinical pharmacological profile of ABJ879, a novel epothilone B analog with potent and protracted anti-tumor activity. *Proceedings of the American Association for Cancer Research* 2004; 45: Abstract #5440.
 59. Patrick, G.; Morris, N.; Monica, F. Microtubule Active Agents: Beyond Frontier theTaxane. *Clin Cancer Res* 2008;14(22) p. 7167-7172.
 60. Morris, P. G.; Fornier, M. N. Ixabepilone and other epothilones: microtubule-targeting agents for metastatic breast cancer. *Clin Adv Hematol Oncol.* 2009 Feb: vol. 7(2) p. 115-122.

61. Altmann, K. H.; Memmert, K. Epothilones as lead structures for new anticancer drugs--pharmacology, fermentation, and structure-activity-relationships. *Prog Drug Res.* 2008;66:273, p. 275-334.
62. Barreiro, E. J.; Bolzani, V. S. Biodiversidade: Fonte potencial para descoberta de fármacos. *Química Nova*, vol. 32, p. 679-688. 2009
63. Perez, E. A.; Patel, T.; Moreno, A. Efficacy of ixabepilone in ER/PR/HER2-negative (triple-negative) breast cancer. March 2010. *Breast Cancer Res Treat* DOI 10.1007/s10549-010-0824-0
64. Morris, P. G.; Fornier, M. N. Ixabepilone and e Epothilones: agents microtubule-alvo of the cancer metastatic. New York. *Clin Oncol Hematol Adv.* 2009, 7 (2): 115-22.
65. Cheng, K. L.; Bradley, T.; Budman, D. R. Novel microtubule-targeting gents - the epothilones. *Biologics: Targets & Therapy* 2008;2(4) p. 789–811.
66. Spriggs, D.; Soignet, S.; Bienvendu, B. Phase I first-in-man study of the epothilone analog BMS-247550 in patients with advanced cancer. *Proc Am Soc Clin Oncol* 20:108a, 2001
67. Perez, E. A.; Lerzo, G.; Pivot, X.; Thomas, E.; Vahdat, L.; Bosserman, L.; Viens, P.; Cai, C.; Mullaney, B.; Peck, R.; Hortobagyi, G. N. Efficacy and safety of ixabepilone (BMS-247550) in a phase II study of patients with advanced breast cancer resistant to an anthracycline, a taxane, and capecitabine. *J Clin Oncol* 2007; vol. 25 p. 3407-3414.
68. Tan, A. R.; Toppmeyer, D. L. Ixabepilone in Metastatic Breast Cancer: Complement or Alternative to Taxanes? *Clin Cancer Res* 2008;14(21) November 1, 2006725 8 p. 6725-6729
69. Abraham, J.; Agrawal, M.; Bakke, S.; Rutt, A.; Edgerly, M.; Balis, F. M.; Widemann, B.; Davis, L.; Damle, B.; Sonnichsen, D.; Lebwohl, D.; Bates, S.; Kotz, H.; Fojo, T. Phase I trial and pharmacokinetic study of BMS-247550, an epothilone B analog, administered intravenously on a daily schedule for five days. *J Clin Oncol* 2003; 21:1866–1873.
70. Mani, S.; McDaid, H.; Hamilton, A.; Hochster, H.; Cohen, M. B.; Khabelle, D.; Griffin, T.; Lebwohl, D. E.; Liebes, L.; Muggia, F.; Horwitz, S. B. Phase I clinical and pharmacokinetic study of BMS-247550, a novel derivative of epothilone B, in solid tumors. *Clin Cancer Res* 2004;10:1289–1298.
71. Spear, L. Ixempra (ixabepilone), package insert. Princeton, NJ: Bristol-Myers Squibb; October 2007.
72. Zhou, J.; Giannakakou, P. (2005) Targeting microtubules for cancer chemotherapy. *Curr Med Chem Anticancer Agents* vol. 5 p. 65–71
73. Larkin, J. M. G.; Kaye, S. B. (2006) Epothilones in the treatment of cancer. *Expert Opin Investig Drugs* vol. 15(6) p. 691–702
74. Nancy Egerton, PharmD, BCOP. Ixabepilone (Ixempra), a Therapeutic Option for Locally Advanced or Metastatic Breast Cancer. Vol. 33 No. 9. September 2008. p. 523-531.
75. Goodin, S.; Kane, M. P.; Rubin, E. H. Epothilones: mechanism of action and biologic activity. *J Clin Oncol* 2004; vol. 22 p. 2015-2025.
76. Abrey, L.; Wen, P. Y.; Govindan, R.; Reimers, H. J.; Rigas, J. R.; Robins, H. I.; Bedout, S.; O'Connell, C.; Li, X.; Johri, A. Activity of patupilone for the treatment of recurrent or progressive brain metastases in patients (pts) with non-small cell lung cancer (NSCLC): an open-label, multicenter, phase II study. *J Clin Oncol* 2007 ASCO Annu Meet Proc 2007; vol 25 p.18058.
77. Chen, T. L.; Twelves, C.; Calvert, A. H. Pharmacokinetics of EPO906 in cancer patients receiving EPO906 by short intravenous infusion once every 3 weeks. *Proc Am Soc Clin Oncol*, 2002.
78. Sessa, C.; Perotti, A.; Llado, A.; Cresta, S.; Capri, G.; Voi, M.; Marsoni, S.; Corradino, I.; Gianni, L. Phase I clinical study of the novel epothilone B analogue BMS-310705 given on a weekly schedule. *Ann Oncol* 2007; vol. 18 p. 1548-1553.
79. Wartmann, M.; Loretan, J.; Reuter, R.; Hattenberger, M.; Muller, M.; Vaxelaire, J.; Maira, S. M.; Flörsheimer, A.; O'Reilly, T.; Nicolau, K. C. Altmann K. H. Preclinical pharmacological profile of ABJ879, a novel epothilone B analog with potent and protracted anti-tumor activity. *Proc Am Assoc Cancer Res* 2004;45.
80. Klar, U.; Buchmann, B.; Schwede, W.; Skuballa, W.; Hoffmann, J.; Lichtner, R. B. Total synthesis and antitumor activity of ZK-EPO: the first fully synthetic epothilone in clinical development. *Angew Chem Int Ed Engl* 2006; vol. 45, p. 7942–7948.
81. Schmid, P.; Kiewe, P.; Possinger, K.; Korfel, A.; Lindemann, S.; Giurescu, M.; Reif, S.; Wiesinger, H.; Thiel E.; Kühnhardt, D. *Phase I study of the novel, fully synthetic epothilone sagopilone (ZK-EPO) in patients with solid tumors.* *Annals of Oncology* vol: 21, p. 633–639, 2010.

82. Beer, T. M.; Higano, C. S.; Saleh, M.; Dreicer, R.; Hudes, G.; Picus, J.; Rarick, M.; Fehrenbacher, L.; Hannah, A. L. Phase II study of KOS-862 in patients with metastatic androgen independent prostate cancer previously treated with docetaxel. *Invest New Drugs* 2007; vol. 25, p. 565-570.
83. Monk, J.; Calero-Villalona, M.; Dupont, J. Phase I trial of KOS-862 (epothilone D) in combination with carboplatin (C) in patients with solid tumors. *J Clin Oncol 2005 ASCO Annu Meet Proc 2005*; vol. 23, p. 2049.
84. Cortes, J.; Climent, M.; Gomez, P.; Ruiz, A.; Calvo, E.; Zhang, X.; Perez, E. S.; Demario, M.; Baselga, J. Phase I trial of weekly combination KOS-862 (epothilone D) and trastuzumab in HER-2 overexpressing malignancies. *J Clin Oncol 2006 ASCO Annu Meet Proc 2006*; vol. 24, p. 2028.
85. Marshall, J. L.; Ramalingam, S.; Hwang, J. J.; Ramanathan, R.; Malik, S.; Egorin, M.; Hannah, A.; Cropp, G. F.; Johnson, R. G.; Belani, C. Phase 1 and pharmacokinetic (PK) study of weekly KOS-862 (epothilone D) combined with gemcitabine (GEM) in patients (pts) with advanced solid tumors. *J Clin Oncol 2005 ASCO Annu Meet Proc 2005*; vol. 23, p. 2041.
86. Overmoyer, B.; Waintraub, S.; Kaufman, P. Phase II trial of KOS-862 (epothilone D) in anthracycline and taxane pretreated metastatic breast cancer. *J Clin Oncol 2005 ASCO Annu Meet Proc 2005*; vol. 23 p. 778.
87. Stopeck, A.; Moulder, S.; Jones, S.; Cohen, J.; McDowell, M.; Cropp, G.; Zhong, Z.; Wells, S.; Hannah, A.; Burris, H. Phase I trial of KOS-1584 (a novel epothilone) using two weekly dosing schedules. *J Clin Oncol 2007 ASCO Annu Meet Proc 2007*; vol. 25, p. 2571.