

**Universidade de Lisboa**

**Faculdade de Farmácia**



**Fármacos aprovados em 2018 para o  
tratamento do melanoma maligno metastático**

**Rita Miguel Baltazar Medinas dos Santos Borrego**

**Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas**

**2020**



**Universidade de Lisboa  
Faculdade de Farmácia**



**Fármacos aprovados em 2018 para o  
tratamento do melanoma maligno  
metastático**

**Rita Miguel Baltazar Medinas dos Santos Borrego**

**Monografia de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas  
apresentada à Universidade de Lisboa através da Faculdade de Farmácia**

**Orientador(a): Professora Auxiliar, Doutora Ana Paula  
Gameiro Francisco**

**2020**



## Resumo

O melanoma maligno cutâneo consiste num tipo de tumor que surge a partir da proliferação descontrolada dos melanócitos, devido a mutações genéticas hereditárias e/ou adquiridas, cujo principal fator de risco é a exposição à radiação ultravioleta (UV). Apesar de representar apenas 1% dos casos de cancro da pele, surge como o mais agressivo e mortal de todos. A presença de metástases sugere geralmente um prognóstico bastante desfavorável e constitui um desafio em termos terapêuticos.

A via MAPK está implicada na regulação da expressão genética, proliferação e sobrevivência celular. A grande maioria dos pacientes com melanoma, nomeadamente os que apresentam metástases distantes, possuem mutações em diferentes proteínas cinase desta via. O proto-oncogene *BRAF* é o mais frequentemente mutado no melanoma, levando a uma hiperativação da via e, por consequência, à proliferação descontrolada das células. Estas descobertas permitiram o desenvolvimento de fármacos direcionados para estas mutações. A partir de 2011 começaram a surgir os inibidores da BRAF, com a promessa de revolucionarem o tratamento de pacientes com melanoma metastático. Devido ao facto destes fármacos induzirem resistência após alguns meses de tratamento, como alternativa, começaram a surgir terapêuticas combinadas entre inibidores da BRAF e inibidores da MEK, sendo esta última, uma proteína cinase da mesma via que, ao ser bloqueada, permitiria prevenir e adiar possíveis mecanismos de resistência.

Ao longo dos anos, vários fármacos foram aprovados para o melanoma metastático, sem, contudo, trazerem grandes benefícios a longo prazo. Após várias combinações desenvolvidas, em 2018, a FDA aprova a combinação entre os fármacos Encorafenib e Binimetinib, após resultados promissores nos seus ensaios clínicos. O presente trabalho pretende expôr de uma forma geral as características e propriedades farmacológicas diferenciadoras destas novas moléculas, dados de eficácia e atividade clínica, bem como perfil de segurança, que levaram à sua aprovação para o melanoma metastático.

**Palavras-chave:** Melanoma, BRAF, MEK, Encorafenib, Binimetinib

# Abstract

Malignant cutaneous melanoma is a type of tumor that arises from the uncontrolled proliferation of melanocytes, due to inherited and / or acquired genetic mutations. The main risk factor for this tumor is the exposure to ultraviolet (UV) radiation. Despite representing only 1% of all skin cancer cases, it is the most aggressive and deadly. The presence of metastases generally suggests a very poor prognosis and constitutes a therapeutic challenge.

The MAPK pathway is implied in the regulation of gene expression and cell proliferation and survival. The vast majority of melanoma patients, particularly those with distant metastases, have mutations in different protein kinases belonging to this pathway. The *BRAF* proto-oncogene is the most frequently mutated in melanoma, which leads to hyperactivation of the pathway and, as a consequence, uncontrolled proliferation of cells. These discoveries allowed the development of drugs aimed at these mutations. In 2011, BRAF inhibitors began to appear, with the promise of revolutionizing the treatment of patients with metastatic melanoma. However, these drugs induce resistance after a few months of treatment and, as an alternative, combined therapies between BRAF inhibitors and MEK inhibitors, began to appear. MEK is a protein kinase of the same pathway, which, when blocked, would prevent and delay possible mechanisms of resistance.

Over the years, several drugs have been approved for metastatic melanoma, without, however, reaping major long-term benefits. After several combinations developed in 2018, the FDA approved the combination between the drugs Encorafenib and Binimetinib, after promising results in clinical trials. The present work intends to expose, in general, the differentiating characteristics and pharmacological properties of these new molecules, data on efficacy and clinical activity, as well as the safety profile, that led to their approval for metastatic melanoma.

**Key Words:** Melanoma, BRAF, MEK, Encorafenib, Binimetinib

# Agradecimentos

À Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa, por ter sido uma segunda casa, uma fonte de conhecimento inimaginável, um lugar seguro e ao mesmo tempo austero, que proporcionou o crescimento pessoal e profissional que marcará para sempre a minha vida.

À Professora Doutora Ana Paula Francisco, por toda a orientação ao longo destes meses, pela disponibilidade que demonstrou e por toda a ajuda que tornou este trabalho possível, um sincero obrigado.

Porque o ser humano, não pode, nem deve caminhar sozinho, este trabalho é dedicado à minha família, que assistiram ao nascer de um objetivo e, durante 6 anos, permitiram que o mesmo se concretizasse, apesar de todas as pedras que se encontravam no caminho.

À minha mãe, o meu pilar central. Por todas as palavras nos momentos certos, que sem se aperceber, tiveram o exatamente o efeito desejado. Ao meu pai, por ser o meu maior exemplo de força e perseverança, que me ensinou a nunca desistir e encarar o futuro de frente. Os vossos sacrifícios jamais serão esquecidos, porque se não fosse pelo vosso amor, paciência, tolerância e força, nada disto teria sido possível. Um obrigado nunca será suficiente.

Ao Luís e ao Pedro, os grandes impulsionadores do meu sucesso. Sem grandes hesitações, sempre fizeram de tudo para que tivesse as condições e ferramentas necessárias para poder sonhar mais alto. Nunca faltaram as palavras sábias, o amor, a amizade, o carinho e a preocupação. Foram e sempre serão a minha fonte de inspiração, os meus exemplos a seguir. Por isso, aos grandes mentores da minha vida, um obrigado também nunca será suficiente, pois tenho perfeita noção, que sem vocês nada disto seria possível.

À Ana Rita, o meu braço direito, que foi o meu apoio, a minha boia de salvamento nos piores momentos e a pessoa com quem criei as melhores memórias destes últimos 6 anos. A prova de que as grandes amizades podem ter impactos extraordinários, e que nos marcam de tal maneira, que mudam para sempre a nossa vida.

À Julie, a minha companheira de todas as horas, que enfrentou comigo todas as adversidades e que tornou todos os momentos mais bonitos, e com a qual partilho

memórias inesquecíveis. Por ter estado sempre ao meu lado, em cada passo que dei, certo ou errado e por me ensinar e impulsionar a ser a melhor versão de mim própria, um gigante obrigada.

Aos meus restantes amigos de Reguengos, e da Faculdade de Farmácia, por terem sido a minha lufada de ar fresco, nos momentos mais críticos, e por celebrarem comigo as grandes vitórias. Por serem a minha segunda família e o meu grande suporte, obrigada.

*“The greatest scientific discovery was the discovery of ignorance. Once humans realised how little they knew about the world, they suddenly had a very good reason to seek new knowledge, which opened up the scientific road to progress.”*

**- Yuval Noah Harari**

# Abreviaturas

**ADP** – Adenosina Difosfato

**ARAF** - *A-Raf Proto-Oncogene Serine/Threonine Kinase*

**ATP** – Adenosina Trifosfato

**BCC** – Carcinoma de Células Basais

**BRAF** - *B-Raf proto-oncogene, serine/threonine kinase*

**CDK4** – *Cyclin Dependent Kinase 4*

**CDKN2A** – *Cyclin Dependent Kinase Inhibitor 2A*

**CRAF** - *C-Raf Proto-Oncogene, Serine/Threonine Kinase*

**CTLA-4** - *Cytotoxic T-Lymphocyte-Associated Protein 4*

**DFG** - *Asp-Phe-Gly Motif*

**DTIC** – Dimetiltriazeno-Imidazol Carboxamida

**EGFR** – Recetor do Factor de Crescimento Epidérmico

**EMA** – *European Medicines Agency*

**ERK** - *Mitogen-Activated Protein Kinase*

**FDA** – *Food and Drug Administration*

**HRAS** - *HRas proto-oncogene*

**IC50** - *Half Maximal Inhibitory Concentration*

**IgG4** - *Immunoglobulina G4*

**IL-2** – *Interleucina-2*

**KIT** - *Proto-oncogene receptor tyrosine kinase*

**KRAS** - *KRas proto-oncogene*

**MAPK** – *Mitogen-Activated Protein Kinase Pathway*

**MC1R** – *Melanocortin 1 Receptor*

**MEK** - *Mitogen-activated Protein Kinase*

**MM** – Melanoma Maligno

**MTD** – *Maximum Tolerated Dose*

**NF1** - *Neurofibromin 1*

**NK** – *Natural Killer*

**NMSC** – *Non Melanocytic Skin Cancer*

**NRAS** – *NRas Proto-oncogene*

**ORR** – *Overall Response Rate*

**OS** – *Overall Survival*

**PD1** - *Programmed Cell Death Protein 1*

**PD-L1** - *Programmed Cell Death-Ligand 1*

**PD-L2** - *Programmed Cell Death-Ligand 2*

**PFS** – *Progression-Free Survival*

**PI3K/AKT** - *Phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) /Protein Kinase B (AKT)*

**PPE** - *Palmar-Plantar Erythrodysesthesia*

**PTEN** - *Phosphatase and Tensin Homolog*

**RAS** – *Rat Sarcoma Virus Oncogene*

**RAF** - *Rapidly Accelerated Fibrosarcoma*

**RTK** – *Receptor Tyrosine Kinase*

**SBRT** - *Stereotactic Body Radiation Therapy*

**SCC** – *Carcinoma de Células Escamosas*

**SRS** – *Sterotactic Radiosurgery*

**TERT** - *Telomerase Reverse Transcriptase*

**UV** – *Ultravioleta*

**WBRT** – *Whole Brain Radiation Therapy*

**WT** - *Wild-Type*

# ÍNDICE

<b>1</b>	<b>Introdução</b>	<b>1</b>
1.1	A pele	1
1.3	Epidemiologia	3
1.4	Etiologia	3
1.4.1	Fatores de risco hereditários	3
1.4.2	Relação com a radiação UV	4
1.4.3	Nevos melanocíticos	4
1.4.4	Alterações de carácter molecular/ mutações	5
1.5	Estadiamento	5
1.6	Melanoma Maligno Metastático	7
<b>2</b>	<b>Objetivos</b>	<b>8</b>
<b>3</b>	<b>Materiais e métodos</b>	<b>9</b>
<b>4</b>	<b>Historial terapêutico do melanoma maligno metastático</b>	<b>10</b>
4.1	Cirurgia	10
4.2	Quimioterapia	10
4.3	Radioterapia	11
4.4	Imunoterapia	12
4.4.1	Interleucina – 2 (IL-2)	12
4.4.2	Ipilimumab	13
4.4.3	Nivolumab	13
4.4.4	Pembrolizumab	14
4.5	Terapia direcionada	14
4.5.1	Vemurafenib	14
4.5.2	Dabrafenib	15
4.5.3	Trametinib	15
4.5.4	Terapias combinadas	15
<b>5</b>	<b>Novas abordagens terapêuticas: fármacos aprovados em 2018</b>	<b>17</b>
5.1	Introdução	17
5.2	Encorafenib	18
5.2.1	Características gerais do fármaco	18
5.2.2	Mecanismo de ação/farmacodinâmica	19
5.2.3	Farmacocinética	21
5.2.4	Principais vantagens e desvantagens	21
5.2.5	Principais efeitos adversos	22
5.2.6	Atividade clínica e eficácia	23
5.3	Binimetinib	23
5.3.1	Características gerais do fármaco	23
5.3.2	Mecanismo de ação/ farmacodinâmica	24
5.3.3	Farmacocinética	24
5.3.4	Principais vantagens e desvantagens	25
5.3.5	Principais efeitos adversos	25
5.3.6	Atividade clínica e eficácia	25
5.4	Terapia Combinada: Encorafenib e Binimetinib	26
5.4.1	Principais efeitos adversos	27
5.4.2	Atividade clínica e eficácia	27

5.4.3	Perspetivas futuras .....	28
6	<b>Conclusão</b> .....	29
	<b>Referências Bibliográficas</b> .....	30



# 1 Introdução

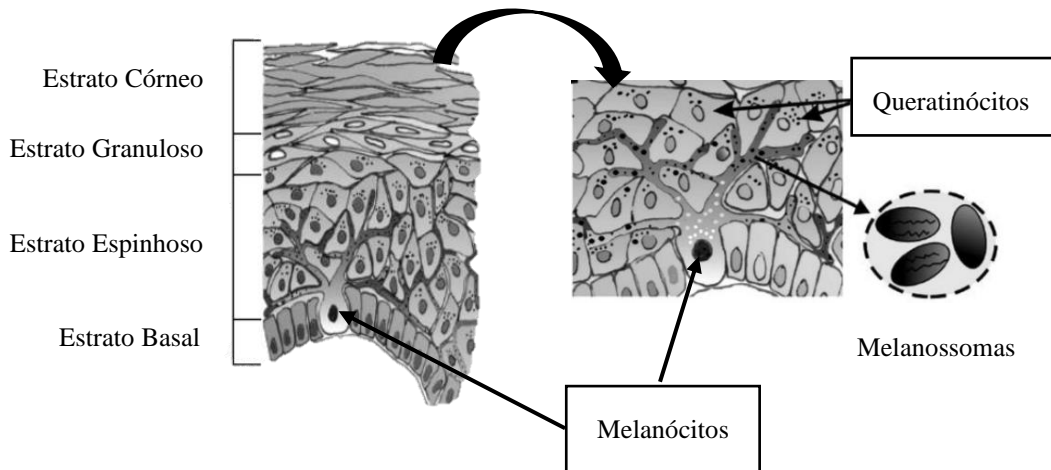
## 1.1 A pele

A pele é considerada o maior órgão do corpo humano, constituindo cerca de 16% da sua massa total (1)(2).

Estruturalmente, divide-se em duas camadas principais distintas: epiderme e derme, estando as duas camadas separadas uma da outra pela membrana basal (3). A epiderme, sendo o principal ponto de contacto com o ambiente exterior, está sujeita aos mais diversos tipos de estímulos externos e fatores de stress. É constituída por células que assumem diferentes funções: queratinócitos, melanócitos, células de Merkel e células de Langerhans. Os queratinócitos são os componentes principais, perfazendo cerca de 95%, enquanto as restantes células mencionadas perfazem 5% da constituição total (3). Para além disto, a epiderme está organizada em 4 principais camadas, dependendo do estado de diferenciação dos seus queratinócitos: estrato córneo (SC), estrato granuloso (SG), estrato espinhoso (SP) e, por fim, a camada mais próxima da derme, o estrato basal (SB) (4).

Os queratinócitos da epiderme, para além de serem os responsáveis pela produção de queratina, também podem acumular o pigmento melanina. Este é responsável pela cor da pele e pelo bloqueio dos raios ultravioleta (UV), permitindo reduzir assim a quantidade de radiação solar que nela penetra, protegendo-a dos seus efeitos nefastos. A melanina está presente em pequenos grânulos designados por melanossomas. Apesar de se acumular nestas células, não é produzida pelas mesmas, mas sim pelos melanócitos, que constituem o segundo tipo de células mais abundantes da epiderme (1).

A pele é constituída por cerca de 3 mil milhões de melanócitos cutâneos, num indivíduo normal (5). Os melanócitos encontram-se maioritariamente acima da membrana basal, que divide a derme e a epiderme, apesar de existirem noutras áreas do corpo, sem ser na pele (1) (5). São um grupo heterogéneo de células dendríticas que derivam da crista neural (células embrionárias) e o seu número varia consoante as diferentes partes do corpo (3). A anterior descrição quanto à estrutura e composição da epiderme encontra-se representada na **Figura 1**.



**Figura 1.** Esquema da estrutura da epiderme e respetiva localização dos melanócitos adaptada da referência (6)

Os melanócitos são células que possuem um baixo potencial proliferativo e, portanto, não sofrem divisão frequentemente (5). O seu ciclo de vida consiste em diversos passos. Surgem a partir das células embrionárias da crista neural (melanoblastos), que irão migrar, proliferar e diferenciar-se em melanócitos. Estes por sua vez sofrem um processo de maturação, que envolve o início da síntese de melanina nos organelos especializados (melanossomas), que posteriormente irão migrar para os queratinócitos (6). O facto de estas células serem bastante resistentes à apoptose e possuírem um longo tempo de semivida e permanência na epiderme, poderá levar à ocorrência de diversos tipos de mutações genéticas, que se vão acumulando ao longo do tempo e que irão comprometer a homeostase cutânea (7).

## 1.2 Melanoma Maligno (MM)

Existem vários tipos de cancro da pele, nomeados a partir do tipo de células da qual surgem e do comportamento clínico que adotam. Os tipos mais comuns são o Carcinoma de Células Basais (BCC) e o Carcinoma de Células Escamosas (SCC), que em conjunto são referidos como Cancros da Pele Não-melanocíticos (NMSC) e por último o melanoma maligno (MM). Este último surge a partir de alterações malignas e

mutações genéticas que ocorrem nos melanócitos, e que levam por consequência à sua proliferação descontrolada. (8)

Apesar do melanoma constituir apenas 1% de todos os casos de cancro de pele, é considerado o mais agressivo e mortal de todos e quando metastisa, o prognóstico é geralmente muito desfavorável. (9)

### **1.3 Epidemiologia**

A incidência do melanoma maligno tem vindo a aumentar gradualmente ao longo das últimas décadas. Se em 2012, foram reportados mundialmente cerca de 232.000 casos, e um total de 55.000 mortes associadas (10), em 2018, confirmava-se a tendência crescente do mesmo, com 287.723 novos casos, e 60.712 mortes associadas (11). A nível europeu, no ano de 2018 foram detetados 144.000 novos casos, e 27.000 mortes associadas (12), sendo uma das principais regiões do globo afetadas. Em 2018, Portugal apresentou 1.320 casos, e 356 mortes devido ao melanoma (13). Estes dados evidenciam que estamos perante um grave problema de saúde pública.

A incidência, no entanto, não é homogénea, variando consoante diversos fatores: raça/etnia, fenótipo de pele, nível de exposição à radiação UV, distribuição por localização geográfica, idade e sexo. Hoje temos conhecimento através de dados epidemiológicos recolhidos ao longo dos anos que, no geral, a incidência é mais elevada nos caucasianos e também nas regiões mais perto do equador, de baixa latitude e elevada altitude. A nível global, a incidência tem o seu pico entre os 70 e os 80 anos. Apesar de a mesma ser baixa em jovens, é, no entanto, um dos tipos de cancro mais comum diagnosticados em jovens adultos. No geral, o sexo masculino é o mais suscetível e apresenta taxas de mortalidade mais elevadas. (14) (15)

### **1.4 Etiologia**

Tanto fatores relacionados com a variabilidade genética, como ambientais ou de exposição à radiação UV, bem como a interação conjunta entre os dois, desempenham um papel crítico no desenvolvimento do Melanoma Maligno.

#### **1.4.1 Fatores de risco hereditários**

O melanoma é uma doença heterogénea que comporta uma etiologia complexa. Cerca de 7% a 15% dos casos de melanoma possui um componente hereditário. Uma mutação no cromossoma 9 que envolve o gene *CDKN2A* (*Cyclin Dependent Kinase*

*Inhibitor 2A*), que codifica para proteínas supressoras do tumor, está presente em cerca de 90% dos casos de melanoma hereditários, e, portanto, os portadores desta mutação são indivíduos com elevado risco de desenvolver o tumor. Mutações no gene *CDK4* (*Cyclin Dependent Kinase 4*) também são um fator de risco hereditário, embora muito menos comum que o anterior (16) e mutações no gene *MC1R* (*Melanocortin 1 Receptor*), envolvido na normal pigmentação da pele, também constituem um fator de risco. Tal acontece porque a produção de melanina pode ficar diminuída, deixando a pele mais exposta e desprotegida à radiação UV (16)(10).

#### **1.4.2 Relação com a radiação UV**

De acordo com a IARC (*Internacional Agency for Research on Cancer*), a radiação UV emitida naturalmente pelo sol ou por métodos artificiais, constitui o maior fator de risco associado ao desenvolvimento de Melanoma Maligno. Em 2012, um artigo publicado pela mesma agência considerou o excesso de exposição à radiação UV, a principal causa de 75,7% dos casos de melanoma diagnosticados mundialmente nesse ano (17). O risco de desenvolver melanoma está mais associado às radiações UV-B (10) e a certos padrões de exposição, nomeadamente exposição intensa e intermitente ao longo do tempo (14)(10). A radiação UV está envolvida no desenvolvimento do tumor, devido ao facto de induzir frequentemente mutações no ADN, sendo um exemplo desta mesma ação, a formação de dímeros de pirimidina entre as bases de timina e citosina adjacentes. (18)

#### **1.4.3 Nevos melanocíticos**

Os nevos, ou frequentemente designados, sinais, são lesões benignas constituídas por um elevado número de melanócitos que, por sua vez, também produzem um elevado nível de melanina, da qual resulta a sua coloração escura. A partir destas lesões, os melanócitos conseguem adquirir a capacidade de proliferar através da epiderme, adquirindo uma citologia atípica que resulta numa lesão pré-maligna designada por nevo displásico. Quanto maior o número de nevos displásicos presentes na pele, maior o risco de eventualmente desenvolver melanoma. (9)

#### 1.4.4 Alterações de carácter molecular/ mutações

O desenvolvimento de melanoma está associado à ocorrência de diversos tipos de alterações genéticas somáticas, que afetam principalmente genes que controlam complexos processos celulares: *BRAF* (*B-Raf proto-oncogene*), *NRAS* (*NRas proto-oncogene*) e *NF1* (*Neurofibromin 1*), ao nível da proliferação celular; *PTEN* (*Phosphatase and Tensin Homolog*) e *KIT* (*KIT proto-oncogene Receptor Tyrosine Kinase*), ao nível do crescimento e metabolismo das células; *p53* e *CDKN2A*, genes supressores de tumores que controlam o ciclo celular e *TERT* (*Telomerase Reverse Transcriptase*), envolvido na capacidade replicativa. No fundo, certas alterações mencionadas anteriormente, estão envolvidas na superativação de duas vias bastante associadas ao desenvolvimento de melanoma: MAPK (*Mitogen-Activated Protein Kinase Pathway*) e PI3K/AKT (*Phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) /Protein Kinase B (AKT)*). A ativação aberrante da via MAPK, responsável pela expressão de genes que controlam a proliferação, diferenciação e sobrevivência das células, ocorre mais frequentemente (90% dos melanomas). A via PI3K/AKT, envolvida na homeostase celular é a segunda mais comumente ativada. O gene mais frequentemente mutado da via MAPK é o *BRAF* (37% a 50% dos casos de melanoma). Seguidamente, temos o gene *NRAS* (15% a 30% casos). Raramente ambas as mutações estão presentes, sendo mutuamente exclusivas. O gene supressor de tumor, *NF1*, encontra-se mutado em cerca de 10%-15% dos casos, perfazendo o terceiro gene mais mutado e associado concomitantemente com as mutações anteriormente mencionadas (*BRAF* e *NRAS*). Os genes referidos podem estar envolvidos tanto na fase inicial como na fase mais avançada do tumor. O mecanismo através do qual o melanoma consegue disseminar-se tão rapidamente ainda permanece inconclusivo. (10)(16)(18)

#### 1.5 Estadiamento

O sistema de estadiamento mais utilizado no diagnóstico e prognóstico da doença, designa-se por classificação TNM, proposto pela AJCC (*American Joint Committee on Cancer*) e baseia-se em parâmetros clínicos e patológicos (16). Este sistema permite caracterizar o tumor em termos de espessura e presença de ulceração e de mitose (T), número de nódulos linfáticos envolvidos (N) e, por fim, a presença ou ausência de metástases (M) (19) (20).

**Tabela 1:** Classificação TNM adaptada das referências (19) e (20) e de acordo com a oitava edição do Manual de Estadiamento do Cancro da *AJCC*.

### Classificação TNM

#### Tumor Primário (T)

**TX:** Tumor não avaliado

**T0:** Tumor não encontrado

**Tis:** Melanoma *in situ*

**T1:** Melanomas com 1,0 mm ou menos em espessura

**T2:** Melanomas com 1,1 a 2,0 mm

**T3:** Melanomas com 2,1 a 4,0 mm

**T4:** Melanomas com mais de 4,0 mm

As categorias anteriormente mencionadas dividem-se em subcategorias a e b, com base na existência ou não de ulceração e consoante a espessura.

#### Nódulos Linfáticos Regionais (N)

**NX:** Nódulos linfáticos não avaliados

**N0:** Sem metástases regionais detetadas

**N1:** 0-1 nódulos

**N2:** 1 a 3 nódulos

**N3:** > 1 nódulos

**N1-3:** Metástases regionais com base no número de nódulos metastásicos, número de nódulos metastásicos palpáveis e presença ou ausência de instabilidade microsatélite. Cada categoria N divide-se de em a, b e c, consoante as características mencionadas anteriormente.

#### Metástases Distantes (M)

**M0:** Sem evidência de metástases distantes

**M1a:** Metástases distantes na pele, tecido mole, incluindo músculo e/ou nódulos linfáticos distantes

**M1b:** Metástases distantes nos pulmões

**M1c:** Metástases viscerais

**M1d:** Metástases distantes no SNC

Os níveis de LDH fazem parte da caracterização da categoria M.

O presente trabalho foca-se no estágio IV, no qual estão envolvidas metástases distantes. Tendo em conta o anterior estadiamento apresentado, o estágio IV compreende qualquer T, qualquer N desde que seja M1 (19).

## **1.6 Melanoma Maligno Metastático**

Até 2011, se o melanoma fosse diagnosticado num estágio inicial (estágio I), o prognóstico era bom e a taxa de sobrevivência aos 5 anos era alta (94-100%). O mesmo não se poderia dizer nos casos mais invasivos e com envolvimento de metástases (estágio IV), em que o prognóstico era bastante desfavorável e cuja taxa de sobrevivência aos 5 anos era inferior a 25% (21). Uma vez no estágio mais avançado, os tratamentos mais tradicionalmente utilizados não eram eficazes e, mesmo com os novos avanços na área da imunoterapia, o tempo médio de sobrevivência variava entre os 8 e os 12 meses (15).

A descoberta dos mecanismos celulares envolvidos, bem como das mutações associadas ao desenvolvimento e progressão do tumor, permitiu o desenvolvimento de terapias mais específicas e direcionadas para um determinado alvo. Assim, tal como iremos constatar mais adiante, uma variedade de novas moléculas foi desenvolvida e aprovada de modo a oferecer uma nova esperança a pacientes, que anteriormente não tinham opções viáveis de tratamentos sistémicos.

## **2 Objetivos**

O presente trabalho tem como objetivo a revisão da literatura científica publicada principalmente nos últimos 5 anos, sobre terapias utilizadas e fármacos aprovados ao longo do tempo para o tratamento do melanoma maligno metastático, dando mais ênfase e escrutínio aos fármacos mais recentemente aprovados pela FDA no ano de 2018: Encorafenib e Binimetinib.

### 3 Materiais e métodos

Os métodos utilizados para a realização da presente monografia consistiram na pesquisa extensiva e recolha de informação sobre o tema a abordar, através de publicações disponíveis em base de dados fidedignas, tais como *PubMed* e *Google Scholar*. Foram utilizados, também, sites na internet tais como *DrugBank* e *PubChem* para informações mais detalhadas quanto às características químicas e farmacológicas das moléculas em estudo e o site oficial da FDA, para detalhes de aprovação das mesmas.

A pesquisa incidiu em publicações mais recentes, com menos de 5 anos, no entanto, foram também utilizadas referências mais antigas devido à importância da sua informação.

## **4 Historial terapêutico do melanoma maligno metastático**

### **4.1 Cirurgia**

A maioria dos casos de melanoma é descoberto ainda num estágio inicial. Nesta fase, a remoção cirúrgica do tumor continua a ser a melhor abordagem, muitas vezes com o intuito de ser curativa (22).

Para pacientes em estágio IV, o papel da cirurgia é menos importante e até um pouco controverso. Durante anos, devido à falta de tratamentos eficazes, a remoção cirúrgica das metástases (metastectomia) era a única hipótese de tentar prolongar o tempo de vida dos doentes e aliviar a sintomatologia. No entanto, dados relativos à sua real eficácia são controversos, visto que aparentemente, só pacientes com uma biologia favorável conseguiriam realmente beneficiar da mesma, de modo a reduzir o impacto da doença, em cuidados paliativos. (23)

No estágio IV, o papel da cirurgia nos dias de hoje continua um pouco difuso. Atualmente, muitos ensaios clínicos estão a ser efetuados com novas moléculas que foram surgindo, de modo a analisar o seu papel como possíveis terapias adjuvantes e neoadjuvantes, de modo a poderem ser complementares à cirurgia. (24)

### **4.2 Quimioterapia**

A quimioterapia consistiu na primeira opção de tratamento no estágio IV e continuou desta forma durante cerca de 20 anos (9).

Em 1974, foi aprovada a Dacarbazina (DTIC), um agente citotóxico alquilante das bases do ADN, que previne a sua replicação. Até hoje continua a ser o único agente citotóxico aprovado em monoterapia para tratamento do melanoma em estágio IV (9) (18). No entanto, devido à fraca efetividade a longo prazo e relativa resistência à mesma, a Dacarbazina começou por ser a base para a formulação e estudo de regimes de quimioterapia que associavam outros fármacos citotóxicos tais como cisplatina e seus análogos, alcalóides de vinca (vincristina e vimblastina), taxanos e nitrosoureas. Infelizmente, estas combinações de citotóxicos não conduziram a uma melhoria na taxa

de sobrevivência aos 5 anos e possuíam no geral, maior toxicidade e efeitos adversos (14) (25).

A verdade é que a quimioterapia é um método ineficaz para tratar o melanoma maligno metastático, devido à resistência tanto intrínseca como adquirida a estes fármacos (26). Devido às baixas taxas de resposta e à incapacidade de aumentar a sobrevida dos doentes, atualmente já não é considerado tratamento de primeira linha para este tipo de cancro (27).

### **4.3 Radioterapia**

O melanoma é um tipo de tumor que confere considerável resistência à radioterapia e, portanto, o seu papel é bastante limitado (28). Estudos apontam para que esta redução de sensibilidade à radiação se deva ao aumento da produção de melanina pelas células melanocíticas (29). Sabe-se que é bastante efetivo nos casos de melanoma *in situ*, no entanto só se torna primeira linha nestes casos, caso o paciente não possa ser operado. (28)

A radioterapia também é utilizada e, por sua vez, bastante eficaz nos cuidados paliativos quando existem metástases distantes e mediante determinados sintomas que o paciente possa desenvolver (30) (31). Durante muitos anos, devido à falta de alternativas, o método WBRT (*Whole Brain Radiation Therapy*) era utilizado nos casos de metástases cerebrais; no entanto, o seu fraco contributo para o aumento da esperança de vida e a sua toxicidade (associada a problemas cognitivos), tornaram-no um último recurso. Técnicas como SRS (*Stereotactic Radiosurgery*) e SBRT (*Stereotactic Body Radiation Therapy*) são mais direcionadas, limitadas em termos de toxicidade e com bons resultados em pacientes com número reduzido de metástases. (30). O SRS é uma técnica não cirúrgica utilizada em pacientes com metástases no cérebro que não são cirurgicamente acessíveis ou como terapia adjuvante pós-remoção das metástases (28).

Atualmente há vários dados que apontam para um possível efeito sinérgico entre imunoterapia e radioterapia, visto que este último continua a ser um tratamento adjuvante promissor em diversos tipos de metástases e um potente modificador do microambiente do tumor (30).

## 4.4 Imunoterapia

Uma mudança de paradigma ocorreu, quando se descobriu o importante papel do sistema imunitário no combate às células tumorais. Diversos tipos de células, nomeadamente as células T, são cruciais no reconhecimento dos antígenos específicos do tumor, ajudando na sua destruição. No entanto, muitas vezes o sistema imunitário falha em combater estas células tumorais, devido à existência de uma certa tolerância imunológica à presença das mesmas, o que permite que elas escapem e proliferem descontroladamente. Inúmeros mecanismos podem ser responsáveis por esta falta de atividade: secreção de citocinas imunossupressoras, ativação de células imunossupressoras e a indução da expressão de moléculas que desencadeiam sinais inibitórios ou pró-apoptóticos (32).

Uma vez conhecidos estes mecanismos, a imunoterapia passou a ser considerada como a única hipótese promissora para o tratamento de pacientes já em estado avançado da doença, uma vez que tem a premissa de tentar reverter ou modificar a maneira como o sistema imunológico poderá combater o tumor (33).

### 4.4.1 Interleucina – 2 (IL-2)

A Interleucina-2 (IL-2) foi aprovada em 1998 pela FDA (*Food and Drug Administration*) para o tratamento do melanoma maligno metastático, devido à sua atividade antitumoral. A IL-2, consiste numa citocina imunomoduladora, produzida principalmente pelas células T e em menor extensão pelas células NK e outras células dendríticas. Esta é capaz de levar à ativação e proliferação dessas mesmas células que as produzem, especialmente os linfócitos T citotóxicos e reguladores, que ajudam no combate e destruição das células tumorais (9) (32). Nos ensaios clínicos de fase II, altas doses de IL-2 levaram a uma taxa de resposta geral de 16%, com uma duração média de resposta de 8,9 meses (34)(35). Estes dados, nomeadamente o facto de induzirem respostas duradouras, levou à aprovação da mesma para o tratamento de melanoma metastático (27). No entanto, a verdade é que, desde então, os ensaios de fase III realizados não conseguiram provar que existia um aumento da taxa de sobrevivência aos 5 anos. Portanto, o facto de a IL-2 não se diferenciar em termos de eficácia e apresentar um perfil de efeitos adversos bastante tóxico, levou a que não se tornasse tratamento de primeira linha, sendo somente utilizado em casos restritos (14) (25) (27).

#### 4.4.2 Ipilimumab

Grandes avanços na área da imunoterapia ocorreram, quando se começaram a desenhar estratégias para bloquear certos mecanismos inibitórios do sistema imunitário, nomeadamente aqueles que suprimiam a resposta do mesmo à presença de antígenos próprios do tumor. A clarificação quanto à forma como os linfócitos T são ativados ou negativamente regulados levou ao surgimento dos inibidores de *checkpoint* imunitários. (33)

O Ipilimumab é um anticorpo monoclonal anti-CTLA-4 (*Cytotoxic T-Lymphocyte-Associated Protein 4*) aprovado pela FDA em 2011, para o tratamento de melanoma metastático em fase avançada. O CTLA-4 é um recetor, membro da família das imunoglobulinas, expresso à superfície de linfócitos T citotóxicos imaturos e de linfócitos T reguladores, responsável pelo bloqueio da ativação destas células, tendo como consequência última a inibição da resposta imunológica por parte destas células. Este fenómeno natural permite prevenir fenómenos auto-imunes e induzir alguma tolerância do próprio sistema imunitário. (36)

O objetivo deste anticorpo passa por bloquear o efeito inibidor e induzir uma ativação das células T, promover a sua infiltração no tumor e aumentar a produção de citocinas pró-inflamatórias. (9) Apesar de associada a alguma toxicidade auto-imune e elevada incidência de efeitos adversos (37), esta foi a primeira terapia sistémica a demonstrar um aumento da taxa de sobrevivência aos 5 anos, em ensaios de fase III, tanto como monoterapia em pacientes previamente tratados, como em combinação com a Dacarbazina (38) (39)

#### 4.4.3 Nivolumab

O Nivolumab é um anticorpo monoclonal que inibe a ligação entre o recetor PD1 (*Programmed Cell Death Protein 1*) e o seus ligandos PD-L1 e PD-L2. O recetor PD-1 encontra-se expresso à superfície de diversas células do sistema imunitário (células T ativadas, células B, Células NK e macrófagos). Os seus ligandos encontram-se à superfície de certas células apresentadoras de antígenos, incluindo as células tumorais do melanoma. Esta ligação PD-1/ligandos tem uma ação supressora sobre a ativação das células T, levando à sua apoptose (40). Foi aprovado pela FDA, em 2014

para o tratamento de melanoma metastático, visto que o bloqueio das ligações referidas anteriormente induz atividade antitumoral e reduz a progressão do tumor (9). Nos ensaios de fase III realizados, o Nivolumab apresentou melhores resultados que a Dacarbazina em pacientes previamente tratados com Ipilimumab, incluindo melhores taxas de resposta, menor toxicidade (40) (41) e aumento significativo da taxa de sobrevivência em doentes previamente não tratados (42).

#### **4.4.4 Pembrolizumab**

O Pembrolizumab é um anticorpo monoclonal IgG4 anti-PD-1, o segundo anti-PD-1 a ser aprovado pela FDA em 2015 para o tratamento de melanoma metastático, refratário à terapêutica com Ipilimumab. Tal como os outros anti-PD1, ao interferir com a ligação do PD-1 aos seus ligandos, vai permitir desencadear uma ativação das células T no combate ao tumor (43). Nos ensaios clínicos de fase I, o fármaco apresentou dados de eficácia bastante interessantes, tanto em pacientes que já tinham recebido Ipilimumab, como em pacientes não sujeitos a qualquer terapia, incluindo boas taxas de resposta e de regressão do tumor, associada a baixa toxicidade (44). Mais tarde, nos ensaios clínicos de fase III, o mesmo demonstrou melhores resultados em termos de taxa de sobrevivência aos 5 anos e menor toxicidade que o Ipilimumab. (9) (18) (43)

### **4.5 Terapia direcionada**

A descoberta de mutações nos oncogenes da via MAPK, bem como o seu mecanismo de funcionamento, permitiram o desenvolvimento de moléculas inibidoras, que atacam diretamente estes alvos, e que revolucionaram e continuam a revolucionar o tratamento do melanoma metastático.

#### **4.5.1 Vemurafenib**

O Vemurafenib, um inibidor seletivo da BRAF, foi aprovado em 2011 pela FDA, para o tratamento de melanoma metastático, na qual seja detetado a mutação V600E no gene *BRAF*, que consiste na mutação mais comum (substituição de valina por ácido glutâmico) (25). Comparativamente à quimioterapia, nomeadamente, a Dacarbazina, o Vemurafenib apresentou melhores resultados em termos de taxa de resposta ao tratamento e taxa de sobrevivência aos 5 anos em pacientes em estágio IV,

nos ensaios realizados em fase III, em pacientes que não tinham sido previamente tratados (9) (18).

#### **4.5.2 Dabrafenib**

O Dabrafenib foi o segundo agente inibidor da BRAF aprovado pela FDA, em 2013 para o tratamento de melanoma metastático, na presença da mutação *BRAF*-V600E e V600K (substituição de valina por lisina). Nos ensaios clínicos de fase III, que levaram à sua aprovação, demonstrou um bom perfil de segurança e melhores taxas de resposta do que a Dacarbazina. (18) Tanto o Vemurafenib como o Dabrafenib apresentaram resultados semelhantes nos seus ensaios clínicos. (33)

#### **4.5.3 Trametinib**

O Trametinib é um inibidor seletivo da MEK1 (*Mitogen-activated protein kinase kinase 1*) e MEK2 (*Mitogen-activated protein kinase kinase 2*). Foi aprovado pela FDA em 2013, para o tratamento de melanoma metastático na qual estejam presentes as mutações V600E e V600K do *BRAF*, que não tenham recebido anterior terapia com inibidores da BRAF (18). Mutações ativas na BRAF, pertencentes à via MAPK levam à fosforilação e ativação das proteínas MEK. Dados pré-clínicos já tinham sugerido uma certa suscetibilidade a estes agentes por parte de pacientes que apresentem as mutações anteriormente mencionadas e também mutações no *RAS* (*Rat Sarcoma Virus Oncogene*). Nos ensaios clínicos de fase III, o Trametinib demonstrou taxas de resposta significativas, aumento da taxa de sobrevivência aos 5 anos relativamente à Dacarbazina, embora com dados ligeiramente inferiores ao Vemurafenib. (33) (45)

#### **4.5.4 Terapias combinadas**

Vários foram os ensaios de fase III realizados que permitiram estabelecer a superioridade da combinação entre inibidores da MEK e inibidores da BRAF, relativamente a qualquer um dos inibidores da BRAF em monoterapia. Observaram-se melhorias a nível de taxas de resposta e tempo médio de resposta ao tratamento (46) (47). Posto isto, a FDA aprovou a combinação Dabrafenib/Trametinib para tratar os pacientes com melanoma que possuam a mutação no *BRAF* V600 E/K, em janeiro de 2014. O Cobimetinib é um potente e seletivo inibidor da MEK1 e mais seletivo para o mesmo do que para a MEK2, cuja eficácia não foi avaliada como sendo em monoterapia, mas sim em terapia combinada com o Vemurafenib em pacientes

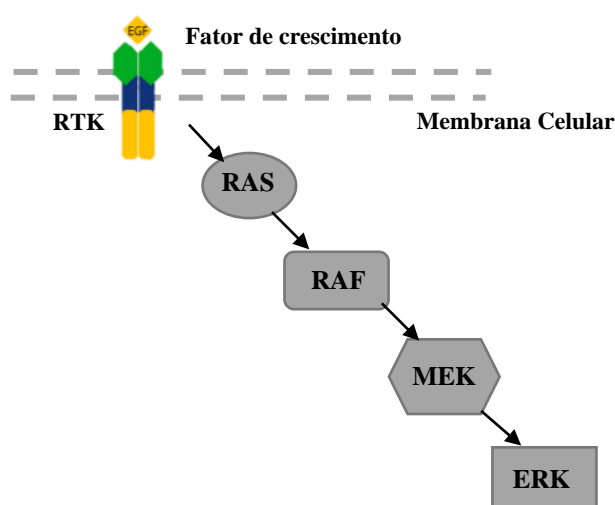
contendo uma mutação no *BRAF*. Nos ensaios clínicos de fase III, que compararam a combinação com Vemurafenib, ficou claro que as taxas de resposta ao tratamento, tempo sem progressão da doença, e taxa de sobrevivência aos 5 anos eram claramente superiores ao Vemurafenib (48) e, deste modo, a FDA aprovou a combinação em novembro de 2015.

## 5 Novas abordagens terapêuticas: fármacos aprovados em 2018

### 5.1 Introdução

A via MAPK/ERK é uma das mais complexas redes de sinalização em cascata, fundamental na regulação da expressão gênica, proliferação e sobrevivência celular e na qual estão envolvidas diferentes famílias de proteínas cinases. (49)

Geralmente, a ativação desta via ocorre por interação de fatores de crescimento (EGFR) e citocinas com recetores de tirosina-cinase (RTK) expressos à superfície das membranas celulares. O primeiro intermediário citosólico da cascata de fosforilação desta via é a superfamília de GTPases denominadas RAS (HRAS, NRAS e KRAS). Posteriormente à ativação das proteínas RAS, segue a ativação da família de proteínas RAF (ARAF, BRAF e CRAF), que consistem em cinases de serina/treonina responsáveis pela progressão da restante via, subsequente ativação da cinase MEK e, posteriormente, da cinase ERK (*Mitogen-Activated Protein Kinase*). Estas últimas estão envolvidas em diversos processos de sobrevivência, proliferação e diferenciação celular. A ERK ativada no núcleo tem a capacidade de fosforilar e ativar fatores de transcrição ligados à formação do ADN e promover a progressão do ciclo celular que culmina na expressão de determinados genes. (49) (50) (51)



**Figura 2.** Esquema da via de sinalização MAPK/ERK adaptada da referência (49)

Na maioria dos casos de melanoma, esta via encontra-se desregulada e hiperativada, devido ao facto de ocorrerem mutações nos oncogenes envolvidos nesta via (49). A mutação mais recorrente ocorre no *BRAF*, em cerca de 50% a 60% dos casos de melanoma (51). A maioria das mutações no *BRAF* situa-se no codão 600, onde se dá a substituição de um aminoácido de valina por ácido glutâmico (mutação V600E) ou por lisina (mutação V600K) (51). A inibição destas proteínas mutadas passou assim a ser um alvo terapêutico, dando origem aos inibidores da BRAF.

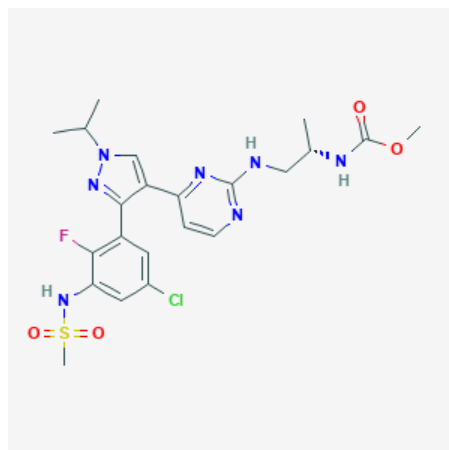
Observou-se que o uso de inibidores da BRAF em monoterapia estava associado ao aparecimento de resistências, alguns meses após o início do tratamento. Um dos mecanismos mais comumente responsáveis por esta resistência designa-se por ativação paradoxal da via MAPK, provocada por esses mesmos inibidores. Em consequência da inibição da BRAF mutada, tanto a BRAF-WT como outras cinases RAF da mesma via vão continuar a ser ativadas por mecanismos de *feedback*, resultando em fenómenos de dimerização das mesmas, com posterior ativação das proteínas MEK e ERK, levando deste modo, ao crescimento celular descontrolado (52) (53).

Com bases nestes conhecimentos, várias combinações de inibidores da BRAF e MEK foram desenvolvidas e posteriormente aprovadas, para o tratamento do melanoma metastático. O racional parte do pressuposto de que, ao adicionar um inibidor da cinase MEK, mais a jusante na via MAPK, é possível contornar os mecanismos de resistência já conhecidos e bloquear a “via de escape” do tumor. A última combinação desenvolvida e aprovada inclui os fármacos Encorafenib e Binimetinib.

## **5.2 Encorafenib**

### **5.2.1 Características gerais do fármaco**

O fármaco Encorafenib pertence à família dos Inibidores da Tirosina Cinase (54). É um inibidor seletivo ATP - competitivo para células em que ocorra a mutação V600E e V600K no *BRAF*, de nome comercial Braftovi ®, desenvolvido pela Array BioPharma. Consiste no mais recente inibidor da BRAF de segunda geração (55).



**Figura 3.** Estrutura química da molécula de Encorafenib

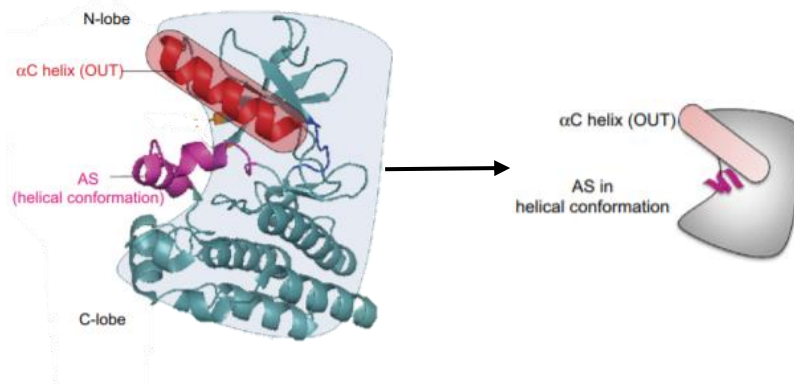
Quanto à sua natureza química, apresenta-se como uma molécula pequena, com peso molecular de 540,01 g/mol e de fórmula química:  $C_{22}H_{27}ClFN_7O_4S$ . Este fármaco pertence a uma classe de compostos orgânicos designados por fenilpirazóis, que possuem um esqueleto onde um grupo pirazol se encontra ligado a um grupo fenilo (54).

### 5.2.2 Mecanismo de ação/farmacodinâmica

O conhecimento sobre a estrutura tridimensional da proteína BRAF serviu de base para a construção do mecanismo de inibição do Encorafenib.

Sendo uma proteína cinase pertencente à família RAF, em termos moleculares, o seu domínio cinase é constituído por dois lobos, N-terminal e C-terminal, ligados por uma ponte flexível. Entre os dois lobos, encontra-se o sítio ativo da cinase que engloba: o local de ligação ao ADP/ATP, o local de ligação ao Magnésio [DFG (Asp–Phe–Gly) motif] e o local aceitador de fósforo (segmento de ativação) (56).

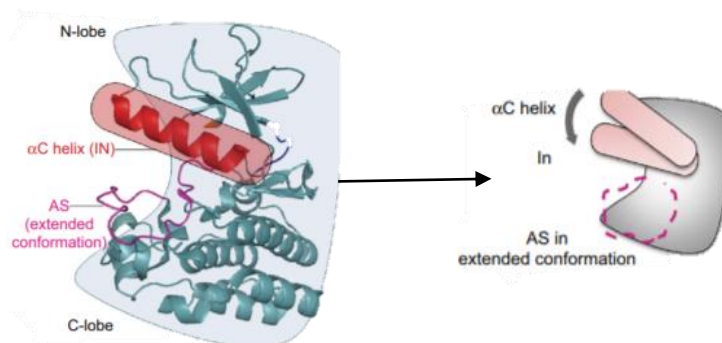
Na ausência de qualquer tipo de estímulo, a sua forma inativa apresenta uma conformação monomérica fechada, em que o seu domínio N-terminal interage e inibe o domínio C-terminal. Nesta fase, o segmento de ativação apresenta uma conformação helicoidal, o que leva a que  $\alpha$ -C-hélix se posicione na posição “OUT”, tal como mostra a **figura 4** (56).



**Figura 4.** Conformação tridimensional da proteína BRAF, no seu estado inativo adaptado da referência (56)

Sabe-se que a proteína BRAF é ativada fisiologicamente por reações de desfosforilação e fosforilação e dimerização simultânea do seu domínio cinase, alterando a sua conformação de inativa para ativa (57) (58).

Após ser cataliticamente ativada, o segmento de ativação transforma-se numa conformação mais distendida, fazendo com que a  $\alpha$ -C-hélice do lobo terminal-N se fixe na posição “IN” (56), tal como se exemplifica na **figura 5**.



**Figura 5.** Conformação tridimensional da proteína BRAF, no seu estado ativo adaptado da referência (56).

Os inibidores da BRAF, dependendo da sua estrutura química, são classificados quanto à conformação através da qual estabilizam a cinase. O Encorafenib, tal como outros inibidores, ligam-se não só ao local de ligação do ATP, mas também a regiões proximais como o DFG, de modo a alcançar mais seletividade. O DFG é também crucial

para a atividade da BRAF. Quando este mantém a sua posição “IN”, encontra-se numa conformação cataliticamente ativa. O Encorafenib é um inibidor do tipo I<sub>1/2</sub>, ligando-se ao local de ligação ao ATP, estabiliza a  $\alpha$ -C-hélice na posição “OUT”, e o DFG na posição “IN”. As mutações V600 da BRAF, ao contrário de outras, conseguem funcionar como monómeros cataliticamente ativos. Desta forma, o Encorafenib apresenta-se como um inibidor seletivo da forma monomérica e mutada da BRAF (59).

O modo como a molécula pode estabilizar a cinase, influencia o seu efeito inibitório e também determina a resistência ao tratamento.

### **5.2.3 Farmacocinética**

O Encorafenib é um fármaco administrado oralmente. Apresenta uma biodisponibilidade de mais de 86%, atinge o máximo da sua concentração ( $C_{m\acute{a}x}$ ) num tempo médio de 2h e possui um tempo de semi-vida de 6h. Caso seja administrado juntamente com alimentos, a sua absorção pode ser mais demorada, não havendo alteração, no entanto, no total de fármaco absorvido. A eliminação do fármaco é feita principalmente por metabolização, através da ação de enzimas do citocromo P450, nomeadamente CYP3A4, CYP2C19 e CYP2D6. Até à data, foram identificados cerca de 20 metabolitos resultantes desta atividade, sendo os mesmos excretados através das fezes e urina em igual proporção (55) (60).

Nos ensaios de fase I, determinou-se que o efeito inibitório era dependente da dose e a partir de 5 mg/Kg, 2 vezes ao dia e que a dose máxima tolerada (MTD) seria 450 mg; no entanto, devido a toxicidade associada, nos ensaios clínicos de fase II, a dose utilizada foi 350mg (61).

### **5.2.4 Principais vantagens e desvantagens**

O Encorafenib possui algumas diferenças interessantes relativamente aos seus homólogos (Dabrafenib e Vemurafenib). Apresenta um tempo de semi-vida de dissociação (tempo necessário para que 50% do fármaco se dissocie do alvo) de cerca de 30h, comparativamente ao Dabrafenib (cerca 2h) e ao Vemurafenib (0,5h). Este facto constitui uma vantagem, uma vez que tal significa que o mesmo irá manter o seu efeito inibitório durante mais tempo (prolongamento da inibição) (55).

Em estudos pré-clínicos, utilizando linhas celulares expressando a mutação *BRAF*-V600, ficou claro que o Encorafenib se apresentava como um inibidor mais potente do que o Vemurafenib e Dabrafenib. O Encorafenib exibe um  $IC_{50}$  (*Half Maximal Inhibitory Concentration*) inferior (40nM), enquanto os anteriores necessitavam de uma maior concentração para inibir a proliferação celular (100nM para o Vemurafenib e 1  $\mu$ M para o Dabrafenib) (55).

O Dabrafenib é o fármaco que mais se assemelha ao Encorafenib, em termos de potência. Porém, este último tem a particularidade de apresentar maior potência contra a *BRAF*-WT e contra a proteína cinase CRAF. Este facto constitui uma vantagem na luta contra os mecanismos de resistência, já que poderá levar à redução da ativação paradoxal da via MAPK (62).

Uma desvantagem do fármaco prende-se com os mecanismos de resistência já detetados noutros inibidores da *BRAF*, tais como o Vemurafenib e Dabrafenib. O efeito destes inibidores em células que não possuam a mutação V600 no *BRAF* é bastante diferente e complexa. As diferentes isoformas da RAF encontram-se na sua forma ativa, sobre a forma de dímeros. O Encorafenib, tal como os restantes inibidores conseguem inibir a forma monomérica da *BRAF* mutada, sendo incapazes de inibir a forma dimérica da *BRAF*-WT e das outras isoformas da RAF, e quando se ligam a estas são capazes de levar à ativação paradoxal da via MAPK (53).

### **5.2.5 Principais efeitos adversos**

Nos ensaios clínicos de fase I, todos os participantes apresentaram algum tipo de reação adversa ao tratamento, sendo as mais comuns as seguintes: PPE (eritrodisestesia palmo-plantar), hiperqueratose, alopecia, artralgia, náusea e prurido (61).

O tratamento com inibidores da *BRAF* (Vemurafenib, Dabrafenib) tem estado associado à indução de neoplasias como Queratoacantomas e Carcinoma das Células Escamosas, que se pensa ser devido à ativação paradoxal da via MAPK, induzida pelos mesmos. O Encorafenib apresenta menor taxa de ocorrência destas alterações malignas, o que poderá ser atribuído ao seu longo período de dissociação (63).

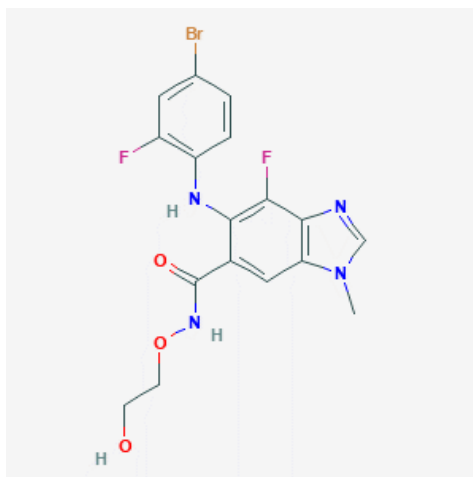
### 5.2.6 Atividade clínica e eficácia

A eficácia do Encorafenib já tinha sido reportada nos ensaios clínicos de fase I (61). Em pacientes com mutação no *BRAF* que não tinham sido previamente tratados, o Encorafenib garantiu uma ORR (*Overall Response Rate*) de 60% e um PFS (*Progression-Free Survival*) de 12,4 meses. No entanto, em pacientes previamente tratados com um inibidor da BRAF, os resultados foram menos satisfatórios, com um ORR de 22% e um PFS de 1,9 meses (64). Ensaios de fase Ib/II também foram realizados, mas incluindo os fármacos Encorafenib e Binimetinib, demonstrando que existia tolerabilidade aceitável e resposta promissora em pacientes com a mutação V600 do *BRAF* (65).

## 5.3 Binimetinib

### 5.3.1 Características gerais do fármaco

O Binimetinib pertence à família dos Inibidores da Tirosina Cinase. Apresenta-se como um inibidor alostérico, não competitivo do ATP, potente, seletivo e reversível do MEK 1 e MEK 2, de nome comercial Mektovi<sup>®</sup>, descoberto e desenvolvido pela Array BioPharma (55).



**Figura 6.** Estrutura química da molécula de Binimetinib

Em termos químicos apresenta-se como uma molécula pequena, com peso molecular de 441,2 g/mol e fórmula química:  $C_{17}H_{15}BrF_2N_4O_3$ . Esta molécula pertence

à classe de compostos orgânicos designados por ácidos 3-halobenzóicos, o que implica que a molécula seja constituída por um anel benzeno ao qual está ligado um átomo de halogénio na posição 3 do anel (66).

### **5.3.2 Mecanismo de ação/ farmacodinâmica**

A proteína MEK é uma típica cinase que possui um local de ligação ao ATP e que possui uma conformação que muda consoante se encontre cataliticamente ativa (fosforilada) ou cataliticamente inativa (não fosforilada). Existem três tipos de inibidores da MEK (I, II e III): ATP- competitivos (tipo I), e ATP- não competitivos (II e III) (67).

Os inibidores do tipo III (que incluem os anteriores Trametinib e o Cobimetinib), são mais seletivos que os restantes. Estes últimos ligam-se ao um sítio alostérico adjacente ao sítio catalítico da cinase MEK, levando a que ocorra uma mudança conformacional que limita a atividade da cinase e que faz com que a mesma adote uma conformação fechada. Visto que se liga a um sítio alostérico é mais específico do que se ligasse ao sítio catalítico que é muito semelhante ao das outras cinases (53).

O Binimetinib é um inibidor do tipo III, bloqueando a cinase numa conformação inativa (67) (68).

### **5.3.3 Farmacocinética**

O Binimetinib consegue inibir a MEK 1 e a MEK 2, inibindo por sua vez a fosforilação da ERK, através de concentrações nanomolares, com um IC<sub>50</sub> de 12 nM. O ensaios clínicos de fase I determinaram que a dose máxima tolerada (MTD) seria 45 mg, 2 vezes por dia, uma vez que doses mais elevadas levariam à ocorrência de toxicidade ocular (69).

Após a administração oral, apresenta uma biodisponibilidade de 50% atinge a concentração máxima dentro de 1,6h, e possui uma semi-vida de 4-8h. Os alimentos podem atrasar a absorção sistémica, mas não a total quantidade de fármaco absorvido (70).

Apresenta uma ligação às proteínas plasmáticas de 97% e é metabolizado principalmente por glucoronidação (61%). Através da metabolização pelo CYP1A2 e

CYP2C19 é produzido um metabolito ativo (8,6%). A maioria do composto é excretado pelas fezes e outra parte mais pequena pela urina (71).

#### **5.3.4 Principais vantagens e desvantagens**

O Binimetinib é um inibidor altamente seletivo da MEK, não possuindo uma atividade inibitória contra outras 220 cinases de serina/treonina em concentrações até cerca de 20  $\mu$ M (72)

Já tinha sido previamente demonstrado que os inibidores da MEK conseguiam ter algum efeito inibitório em melanomas com mutação no *BRAF*. O Trametinib conseguiu demonstrar este facto, sendo aprovado para esse efeito. Embora o Binimetinib, tenha demonstrado eficácia, o seu resultado foi no mínimo modesto e muito comparável ao Trametinib, portanto, nunca chegou a ser aprovado em monoterapia, tal como iremos ver adiante (73).

Sendo um inibidor alostérico, também apresenta diversas vulnerabilidades que resultam em mecanismos de resistência já observados. Primeiro, existe uma redução da sua capacidade de inibição se ocorrer ativação a montante da via MAPK (devido por exemplo à presença de mutações), o que poderá levar a um aumento da ativação da MEK. Visto que este inibidor se liga à sua forma inativa, fica sem capacidade para se ligar à sua forma ativa. Para além disso também é suscetível à ativação paradoxal da via MAPK, devido a mecanismos de feedback que levam à ativação da RAS a montante. Todos estes eventos levam a um aumento da fosforilação da MEK e sua ativação, reduzindo assim a eficácia dos inibidores da MEK. (53)

#### **5.3.5 Principais efeitos adversos**

Os principais efeitos adversos reportados nos ensaios clínicos de fase I, em todas as doses administradas, foram sintomas gastrointestinais (diarreia e náusea), erupções cutâneas, edema periférico e fadiga, demonstrando no entanto, um bom perfil de segurança (69).

#### **5.3.6 Atividade clínica e eficácia**

Alguns sinais da possível atividade antitumoral do Binimetinib já tinham sido observados nos ensaios clínicos de fase I e em diversos tipos de tumores (69). Os

ensaios clínicos de fase II foram realizados em pacientes com melanoma, possuíam uma mutação no *NRAS* (grupo 1) e a mutação V600 do *BRAF* (grupo 2), a maioria já previamente tratada com quimioterapia ou imunoterapia. Embora em pequena escala, permitiu observar uma resposta parcial em ambos os grupos e com um PFS de 3,7 meses e 3,6 meses, respetivamente e com um ORR médio de 20% em ambos os grupos (74).

Os ensaios clínicos de fase III, realizados em pacientes com melanoma metastizado que possuíam a mutação no *NRAS*, pretendia comparar o Binimetinib com a Dacarbazina. O Binimetinib apresentou um ORR de 15% e um PFS de 2,8 meses, sendo relativamente superior à Dacarbazina (ORR 7% e PFS 1,5 meses). (75) Estes dados, no entanto, não foram suficientes para levarem à aprovação para esta indicação em específico, motivando assim o interesse de ser avaliado conjuntamente com o Encorafenib para o tratamento de pacientes contendo a mutação V600 no *BRAF*.

#### **5.4 Terapia Combinada: Encorafenib e Binimetinib**

O Encorafenib, em conjunto com o Binimetinib, é a terceira combinação de inibidores da BRAF e da MEK aprovada para o tratamento de melanoma metastático. Tal como as anteriores combinações, o racional prende-se como uma estratégia para prevenir ou adiar o aparecimento de resistências já documentadas relativamente a estes tipos de inibidores. Baseado nos resultados dos ensaios clínicos de fase III, esta combinação foi aprovada pela FDA, a 27 de junho de 2018, para pacientes com melanoma que não possa ser removido cirurgicamente ou com metástases, portadores das mutações V600E e V600K do *BRAF*. (76) Na Europa, a EMA (*European Medicines Agency*) emitiu um parecer positivo para a mesma combinação em julho de 2018 (77) (78).

Mesmo com as anteriores combinações entre inibidores da BRAF/MEK, um dos grandes problemas na prática clínica passa pelo facto de, apesar destas combinações terem inicialmente, altas taxas de resposta ao tratamento, ao fim de 3 anos, a maioria dos doentes apresenta resistência ao tratamento e mesmo progressão da doença (79). Adicionalmente, muitas vezes os pacientes não conseguem aguentar o tratamento devido à ocorrência de efeitos adversos e toxicidade associada. Desta forma, só

compostos que apresentassem um melhor perfil farmacológico e melhor tolerabilidade poderiam ser uma alternativa às terapêuticas já existentes.

#### **5.4.1 Principais efeitos adversos**

A combinação Encorafenib e Binimetinib, apesar de aparentemente benéfica, não está isenta de riscos. Comparativamente com o Encorafenib e o Vemurafenib, em monoterapia, apresenta um perfil mais favorável, menos efeitos adversos e menos efeitos tóxicos que implicam a descontinuação do tratamento (80).

Na combinação Encorafenib-Binimetinib, as reações adversas mais comuns foram náuseas, diarreia, vômitos, fadiga, artralgia, dor de cabeça, obstipação, astenia e pirexia (72).

Comparativamente às restantes combinações, a incidência de efeitos adversos é muito semelhante. No entanto, cada uma delas estava associada a efeitos tóxicos específicos, decorrente do observado nos seus ensaios clínicos: Dabrafenib-Trametinib associada à ocorrência de pirexia, enquanto a combinação Vemurafenib-Cobimetinib está relacionada com um elevado grau de fotossensibilidade. No caso do Encorafenib-Binimetinib, estes efeitos tóxicos ocorrem com menor frequência e menor intensidade (80).

#### **5.4.2 Atividade clínica e eficácia**

Nos ensaios clínicos de fase III, que conseqüentemente levaram à sua aprovação, os resultados foram bastantes promissores. Estes tinham o objetivo de comparar esta combinação com o Vemurafenib e Encorafenib em monoterapia. A combinação Encorafenib-Binimetinib permitiu aos pacientes um maior PFS e melhor ORR (PFS 14,9 meses, ORR 63%), comparativamente ao Encorafenib (PFS 9,6 meses, ORR 51%) e Vemurafenib (PFS 7,3 meses, ORR 40%)(64)(80). O perfil de tolerabilidade da combinação é mais favorável do que a monoterapia com Vemurafenib ou Encorafenib, apresentando menos efeitos tóxicos e menos ocorrência de descontinuação da medicação devido a efeitos adversos. (80) Devido ao facto de a combinação ter demonstrado, no geral, menor toxicidade do que a monoterapia com

Encorafenib, isto possibilitou o aumento de dose para 450 mg, de modo a potenciar o seu efeito inibitório (80).

Analogamente às outras combinações aprovadas e tendo em conta os dados dos respetivos ensaios de fase III, a combinação Encorafenib-Binimetinib foi a que apresentou uma melhor OS (33,6 meses) e permitiu um maior tempo médio sem progressão da doença (64).

Um estudo publicado em 2019, faz uma comparação indireta entre as três combinações aprovadas, revelando que não existem diferenças estatisticamente significantes em termos de OS, PFS e ORR, mas sim em termos do perfil de segurança. Assim a combinação Encorafenib-Binimetinib apresenta um perfil mais aceitável, o que se poderá dever às propriedades farmacológicas do Encorafenib (81).

### **5.4.3 Perspetivas futuras**

Vários ensaios clínicos estão a decorrer com novas moléculas que eventualmente poderão resolver uma das falhas destes últimos fármacos aprovados. Uma nova geração de inibidores está em desenvolvimento de modo a conseguir inibir tanto as formas monoméricas como as formas diméricas da RAF. Outro tipo de inibidores que também estão em desenvolvimento têm como intuito não induzir a ativação paradoxal da via MAPK, através de possíveis substituições em certos grupos centrais da molécula (56) (53). O papel do Encorafenib juntamente com o Binimetinib continua a ser estudado em paralelo com outras classes de moléculas de imunoterapia: anti-CTLA (Ipilimumab) e anti-PD1 (Pembrolizumab)(82) (83).

## 6 Conclusão

O tratamento do melanoma maligno metastático sofreu grandes avanços ao longo dos últimos anos. Os Inibidores da Tirosina Cinase, nomeadamente inibidores da BRAF e inibidores da MEK desenvolvidos e aprovados entre 2011 e 2015, tiveram um grande impacto na gestão da doença e levaram a uma mudança de paradigma da mesma. No entanto, mesmo com bons resultados em termos de eficácia e elevadas taxas de resposta, a ocorrência de resistências a estes fármacos, com posterior progressão da doença, continuava a ser um grande problema a enfrentar.

Em 2018, a FDA aprovou a combinação de fármacos Encorafenib (inibidor da BRAF) e Binimetinib (Inibidor da MEK), com base nas altas taxas de resposta e de tempo médio de duração da resposta e no perfil de toxicidade bastante favorável, apresentados nos ensaios clínicos que levaram à sua aprovação. O Encorafenib apresenta um perfil farmacológico diferente de qualquer outro inibidor da BRAF. O seu longo tempo de dissociação, a sua maior potência, a capacidade de inibição de outras cinases da via e o perfil tolerável de efeitos adversos apresentam-se como vantagens relativamente aos seus homólogos. O Binimetinib, apesar de altamente seletivo para a MEK, apresenta, na verdade, um perfil muito semelhante ao Trametinib, não se constatando diferenças estatisticamente significativas que justificassem a sua aprovação em monoterapia, mas sendo uma mais valia ao lado do Encorafenib, tal como ficou posteriormente demonstrado.

A combinação aqui explorada, juntamente com as outras combinações aprovadas, constituem o tratamento de primeira linha de acordo com as *guidelines* da NCCN (*Nacional Comprehensive Cancer Network*), para os doentes com mutações no *BRAF*. Apesar do futuro ser promissor, os mecanismos de resistência vão continuar a ser um problema e, portanto, estes fármacos não se assumem como uma possível cura, mas sim como uma possível hipótese de prolongar a sobrevida do doente.

O que seria necessário e desejável, era obter uma direta comparação entre esta mais recente combinação e as anteriormente aprovadas, de modo a confirmarmos os seus benefícios clínicos. Embora, diversos ensaios clínicos estejam a ocorrer de modo a avaliar a possível combinação entre o Encorafenib-Binimetinib e outras moléculas já conhecidas, de outras classes e mecanismos diferentes, atualmente esta representa uma das melhores hipóteses para o tratamento do melanoma metastático.

## Referências Bibliográficas

1. D’Orazio J, Jarrett S, Amaro-Ortiz A, Scott T. UV radiation and the skin. *Int J Mol Sci.* 2013;14(6):12222–48.
2. Slominski A, Wortsman J. Neuroendocrinology of the skin. *Endocr Rev.* 2000;21(5):457–87.
3. Zaidi Z, Lanigan SW. *Dermatology in clinical practice.* Springer. 2010;(1):1–15.
4. Menon GK. New insights into skin structure: Scratching the surface. *Adv Drug Deliv Rev.* 2002;54(SUPPL.):S3.
5. Shain AH, Bastian BC. From melanocytes to melanomas. *Nat Rev Cancer.* 2016;16(6):345–58. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrc.2016.37>
6. Cichorek M, Wachulska M, Stasiewicz A, Tymińska A. Skin melanocytes: Biology and development. *Postep Dermatologii i Alergol.* 2013;30(1):30–41.
7. Bosserhoff AK. Melanoma development: Molecular biology, genetics and clinical application. *Melanoma Development: Molecular Biology, Genetics and Clinical Application.* 2017. 1–447 p.
8. Wang JX, Fukunaga-Kalabis M, Herlyn M. Crosstalk in skin: melanocytes, keratinocytes, stem cells, and melanoma. *J Cell Commun Signal.* 2016;10(3):191–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s12079-016-0349-3>
9. Domingues B, Lopes J, Soares P, Populo H. Melanoma treatment in review. *ImmunoTargets Ther.* 2018;7:35–49.
10. Leonardi GC, Falzone L, Salemi R, Zanghì A, Spandidos DA, Mccubrey JA, et al. Cutaneous melanoma: From pathogenesis to therapy (Review). *Int J Oncol.* 2018;52(4):1071–80.
11. International Agency for Research on Cancer. Globocan 2018. Available from: <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/16-Melanoma-of-skin-fact-sheet.pdf>
12. International Agency for Research on Cancer. Globocan 2018. Available from: <http://www.melanomapatientnetworkeu.org/melanoma.html>

13. IARC. Portugal Fact Sheets. Globocan 2018. 2018. Available from: <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/620-portugal-fact-sheets.pdf>
14. Orthaber K, Pristovnik M, Skok K, Perić B, Maver U. Skin Cancer and Its Treatment: Novel Treatment Approaches with Emphasis on Nanotechnology. *J Nanomater.* 2017;2017.
15. Matthews N, Li W-Q, Qhreshi A, Weinstock M. Epidemiology of melanoma. William W, Farma J, editors. *Cutan Melanoma Etiol Ther.* Codon Publ. 2017;Section I:3–22.
16. Arrangoiz R. Melanoma Review: Epidemiology, Risk Factors, Diagnosis and Staging. *J Cancer Treat Res.* 2016;4(1):1.
17. Arnold M, de Vries E, Whiteman DC, Jemal A, Bray F, Parkin DM, et al. Global burden of cutaneous melanoma attributable to ultraviolet radiation in 2012. *Int J Cancer.* 2018;143(6):1305–14.
18. Liu Y, Sheikh MS. Melanoma: Molecular pathogenesis and therapeutic management. *Mol Cell Pharmacol.* 2014;6(3):31–44.
19. Scolyer RA, Rawson R V., Gershenwald JE, Ferguson PM, Prieto VG. Melanoma pathology reporting and staging. *Mod Pathol.* 2020;33:15–24. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41379-019-0402-x>
20. Ward W, Lambreton F, Goel N, Q.YU J, Farma J. Clinical Presentation and Staging of Melanoma. Ward W, Farma J, editors. *Cutan Melanoma Etiol Ther.* 2017;Section II:79–89.
21. Svedman FC, Pillas D, Taylor A, Kaur M, Linder R, Hansson J. Stage-specific survival and recurrence in patients with cutaneous malignant melanoma in Europe – A systematic review of the literature. *Clin Epidemiol.* 2016;8:109–22.
22. Joyce KM. Surgical Management of Melanoma. Ward W, Farma J, editors. *Cutan MELANOMA Etiol Ther.* 2017;Section II:91–100.
23. Raigani S, Cohen S, Boland GM. The Role of Surgery for Melanoma in an Era of Effective Systemic Therapy. *Curr Oncol Rep.* 2017;19(3):1–5.
24. Enomoto LM, Levine EA, Shen P, Votanopoulos KI. Role of Surgery for

- Metastatic Melanoma. *Surg Clin North Am.* 2020;100(1):127–39. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.suc.2019.09.011>
25. Jin S, Mishra-Kalyani PS, Sridhara R. Unresectable and Metastatic Melanoma of the Skin: Literature Review of Clinical Trials and Efficacy Endpoints Since 2000. *Ther Innov Regul Sci.* 2019;53(1):59–70.
  26. Kalal BS, Upadhya D, Pai VR. Chemotherapy resistance mechanisms in advanced skin cancer. *Oncol Rev.* 2017;11(1):19–25.
  27. Swe T, Kim KB. Update on systemic therapy for advanced cutaneous melanoma and recent development of novel drugs. *Clin Exp Metastasis.* 2018;35(5–6):503–20. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s10585-018-9913-y>
  28. Rogers SJ, Puric E, Eberle B, Datta NR, Bodis SB. Radiotherapy for Melanoma: More than DNA Damage. *Dermatol Res Pract.* 2019;1–9.
  29. Brozyna AA, Józwicki W, Roszkowski K, Filipiak J, Slominski AT. Melanin content in melanoma metastases affects the outcome of radiotherapy. *Oncotarget.* 2016;7(14):17844–53.
  30. Shi W. Radiation Therapy for Melanoma. Ward W, Farma J, editors. *Cutan MELANOMA Etiol Ther.* 2017;Section II:101–20.
  31. Espenel S, Vallard A, Rancoule C, Garcia MA, Guy JB, Chargari C, et al. Melanoma: Last call for radiotherapy. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2017;110:13–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.critrevonc.2016.12.003>
  32. Arosa F, Cardoso E, Pacheco F. *Fundamentos de imunologia.* 2ª edição. 2012;16:363–5.
  33. Sullivan RJ, Flaherty KT. New strategies in melanoma: Entering the era of combinatorial therapy. *Clin Cancer Res.* 2015;21(11):2424–35.
  34. Kee D, McArthur G. Immunotherapy of melanoma. *Eur J Surg Oncol.* 2017;43(3):594–603. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejso.2016.07.014>
  35. Marabondo S, Kaufman HL. High-dose interleukin-2 (IL-2) for the treatment of melanoma: safety considerations and future directions. *Expert Opin Drug Saf.* 2017;16(12):1347–57. Available from:

<https://doi.org/10.1080/14740338.2017.1382472>

36. Achkar T, Tarhini AA. The use of immunotherapy in the treatment of melanoma Ahmed Tarhini; Timothy Burns; Rahul Parikh; Guarvel Goel; Annie im. *J Hematol Oncol*. 2017;10(1):1–9.
37. Hodi FS, Day SJO, McDermott DF, Weber RW, Sosman JA, Haanen JB, et al. Improved Survival with Ipilimumab in Patients with Metastatic Melanoma. 2013;363(8):711–23.
38. Robert C, Thomas L, Bondarenko I, O’Day S, Weber J, Garbe C, et al. Ipilimumab plus dacarbazine for previously untreated metastatic melanoma. *N Engl J Med*. 2011;364(26):2517–26.
39. Schadendorf D, Hodi FS, Robert C, Weber JS, Margolin K, Hamid O, et al. Pooled analysis of long-term survival data from phase II and phase III trials of ipilimumab in unresectable or metastatic melanoma. *J Clin Oncol*. 2015;33(17):1889–94.
40. Salama AKS. First-line treatment of metastatic melanoma: role of nivolumab. *ImunoTargets Ther*. 2017;1–10.
41. Weber JS, Minor DR, D’Angelo SP, Hodi FS, Gutzmer R, Neyns B, et al. A Phase 3 Randomized, Open-Label Study of Nivolumab (Anti-Pd-1; Bms-936558; Ono-4538) Versus Investigator’S Choice Chemotherapy (Icc) in Patients with Advanced Melanoma After Prior Anti-Ctla-4 Therapy. *Ann Oncol*. 2014;25(Supplement 5):v1. Available from: <http://dx.doi.org/10.1093/annonc/mdu438.34>
42. Ascierto PA, Long G V., Robert C, Brady B, Dutriaux C, Di Giacomo AM, et al. Survival Outcomes in Patients with Previously Untreated BRAF Wild-Type Advanced Melanoma Treated with Nivolumab Therapy: Three-Year Follow-up of a Randomized Phase 3 Trial. *JAMA Oncol*. 2019;5(2):187–94.
43. Sahni S, Valecha G, Sahni A. Role of Anti-PD-1 Antibodies in Advanced Melanoma: The Era of Immunotherapy. *Cureus*. 2018;10(12):1–10.
44. Hamid O, Robert C, Daud A, Hodi FS, Hwu WJ, Kefford R, et al. Safety and tumor responses with lambrolizumab (anti-PD-1) in melanoma. *N Engl J Med*. 2013;369(2):134–44.

45. Flaherty KT, Robert C, Hersey P, Nathan P, Garbe C, Milhem M, et al. Improved survival with MEK inhibition in BRAF-mutated melanoma. *N Engl J Med*. 2012;367(2):107–14.
46. Long G V., Stroyakovskiy D, Gogas H, Levchenko E, De Braud F, Larkin J, et al. Combined BRAF and MEK inhibition versus BRAF inhibition alone in melanoma. *N Engl J Med*. 2014;371(20):1877–88.
47. Larkin J, Ascierto PA, Dréno B, Atkinson V, Liskay G, Maio M, et al. Combined vemurafenib and cobimetinib in BRAF-mutated melanoma. *N Engl J Med*. 2014;371(20):1867–76.
48. Ascierto PA, McArthur GA, Dréno B, Atkinson V, Liskay G, Di Giacomo AM, et al. Cobimetinib combined with vemurafenib in advanced BRAFV600-mutant melanoma (coBRIM): updated efficacy results from a randomised, double-blind, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2016;17(9):1248–60.
49. Braicu C, Buse M, Busuioc C, Drula R, Gulei D, Raduly L, et al. A comprehensive review on MAPK: A promising therapeutic target in cancer. *Cancers (Basel)*. 2019;11(10):1–25.
50. Burotto M, Chiou VL, Lee JM, Kohn EC. The MAPK pathway across different malignancies: A new perspective. *Cancer*. 2014;120(22):3446–56.
51. Zhou AY, Johnson DB. Combinatorial Therapies in Melanoma: MAPK Inhibitors and Beyond. *Am J Clin Dermatol*. 2018;19(2):181–93.
52. Griffin M, Scotto D, Josephs DH, Mele S, Crescioli S, Bax HJ, et al. BRAF inhibitors : resistance and the promise of combination treatments for melanoma. *Oncotarget*. 2017;8(44):78174–92.
53. Yaeger R, Corcoran RB. Targeting alterations in the RAF–MEK pathway. *Cancer Discov*. 2019;9(3):329–41.
54. Drug Bank. Encorafenib. Available from: <https://www.drugbank.ca/drugs/DB11718>
55. Sun J, Zager JS, Eroglu Z. Encorafenib/binimetinib for the treatment of BRAF-mutant advanced, unresectable, or metastatic melanoma: Design, development, and potential place in therapy. *Onco Targets Ther*. 2018;11:9081–9.

56. Pan JH, Zhou H, Zhu S Bin, Huang JL, Zhao XX, Ding H, et al. Development of small-molecule therapeutics and strategies for targeting RAF kinase in BRAF-mutant colorectal cancer. *Cancer Manag Res.* 2018;10:2289–301.
57. Röck R, Mayrhofer JE, Torres-Quesada O,ENZLER F, Raffeiner A, Raffeiner P, et al. BRAF inhibitors promote intermediate BRAF(V600E) conformations and binary interactions with activated RAS. *Sci Adv.* 2019;5(8):14–6.
58. Cotto-Rios XM, Agianian B, Gitego N, Zacharioudakis E, Giricz O, Wu Y, et al. Inhibitors of BRAF dimers using an allosteric site. *Nat Commun.* 2020;11(1). Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41467-020-18123-2>
59. Zhao Z, Bourne PE. Overview of Current Type I/II Kinase Inhibitors. 2018;(434). Available from: <http://arxiv.org/abs/1811.09718>
60. Koelblinger P, Thuerigen O, Dummer R. Development of encorafenib for BRAF-mutated advanced melanoma. *Curr Opin Oncol.* 2018;30(2):125–33.
61. Delord JP, Robert C, Nyakas M, McArthur GA, Kudchakar R, Mahipal A, et al. Phase I dose-escalation and -expansion study of the BRAF inhibitor encorafenib (LGX818) in metastatic BRAF-mutant melanoma. Vol. 23, *Clinical Cancer Research.* 2017. 5339–5348 p.
62. Subbiah V, Baik C, Kirkwood JM. Clinical Development of BRAF plus MEK Inhibitor Combinations. *Trends in Cancer.* 2020;6(9):797–810. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.trecan.2020.05.009>
63. Adelman CH, Ching G, Du L, Saporito RC, Bansal V, Pence LJ, et al. Comparative profiles of BRAF inhibitors: The paradox index as a predictor of clinical toxicity. *Oncotarget.* 2016;7(21):30453–60.
64. Sarkisian S, Davar D. MEK inhibitors for the treatment of NRAS mutant melanoma. *Drug Des Devel Ther.* 2018;12:2553–65.
65. Sullivan RJ, Weber J, Patel S, Dummer R, Carlino MS, Tan DSW, et al. A Phase Ib/II Study of the BRAF Inhibitor Encorafenib Plus the MEK Inhibitor Binimetinib in Patients with BRAF V600E/K -mutant Solid Tumors . *Clin Cancer Res.* 2020;26(19):5102–12.
66. Drug Bank. Binimetinib. Available from: <https://go.drugbank.com/drugs/DB11967>

67. Zhao Z, Xie L, Bourne PE. Insights into the binding mode of MEK type-III inhibitors. A step towards discovering and designing allosteric kinase inhibitors across the human kinome. *PLoS One*. 2017;12(6):1–14.
68. Wu PK, Park JI. MEK1/2 Inhibitors: Molecular Activity and Resistance Mechanisms. *Semin Oncol*. 2015;42(6):849–62. Available from: <http://dx.doi.org/10.1053/j.seminoncol.2015.09.023>
69. Bendell JC, Javle M, Bekaii-Saab TS, Finn RS, Wainberg ZA, Laheru DA, et al. A phase 1 dose-escalation and expansion study of binimetinib (MEK162), a potent and selective oral MEK1/2 inhibitor. *Br J Cancer*. 2017;116(5):575–83.
70. Koelblinger P, Dornbierer J, Dummer R. A review of binimetinib for the treatment of mutant cutaneous melanoma. *Futur Oncol*. 2017;13(20):1–12.
71. FDA. Mektovi® (binimetinib) tablets: US prescribing information. 2018 Available from: [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2018/2104981bl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2018/2104981bl.pdf)
72. Tran B, Cohen MS. The discovery and development of binimetinib for the treatment of melanoma. *Expert Opin Drug Discov*. 2020;15(7):745–54. Available from: <https://doi.org/10.1080/17460441.2020.1746265>
73. Specenier P. An overview of binimetinib for the treatment of melanoma. *Expert Opin Pharmacother*. 2020;21(7):747–54. Available from: <https://doi.org/10.1080/14656566.2020.1729122>
74. Ascierto PA, Schadendorf D, Berking C, Agarwala SS, van Herpen CML, Queirolo P, et al. MEK162 for patients with advanced melanoma harbouring NRAS or Val600 BRAF mutations: A non-randomised, open-label phase 2 study. *Lancet Oncol*. 2013;14(3):249–56. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S1470-2045\(13\)70024-X](http://dx.doi.org/10.1016/S1470-2045(13)70024-X)
75. Dummer R, Schadendorf D, Ascierto PA, Arance A, Dutriaux C, Di Giacomo AM, et al. Binimetinib versus dacarbazine in patients with advanced NRAS-mutant melanoma (NEMO): a multicentre, open-label, randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2017;18(4):435–45.
76. FDA. FDA approves encorafenib and binimetinib in combination for unresectable or metastatic melanoma with BRAF mutations. 2018. Available

- from: <https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-approves-encorafenib-and-binimetinib-combination-unresectable-or-metastatic-melanoma-braf>
77. EMA. Summary of opinion (initial authorisation): Mektovi (binimetinib). 2018 Available from: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/smop-initial/chmp-summary-positive-opinion-mektovi\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/smop-initial/chmp-summary-positive-opinion-mektovi_en.pdf)
  78. EMA. Summary of opinion (initial authorisation): Braftovi (encorafenib). 2018. Available from: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/smop-initial/chmp-summary-positive-opinion-braftovi\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/smop-initial/chmp-summary-positive-opinion-braftovi_en.pdf)
  79. Long G V., Eroglu Z, Infante J, Patel S, Daud A, Johnson DB, et al. Long-term outcomes in patients with BRAF V600-mutant metastatic melanoma who received dabrafenib combined with trametinib. *J Clin Oncol.* 2018;36(7):667–73.
  80. Dummer R, Ascierto PA, Gogas HJ, Arance A, Mandala M, Liskay G, et al. Encorafenib plus binimetinib versus vemurafenib or encorafenib in patients with BRAF-mutant melanoma (COLUMBUS): a multicentre, open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2018;19(5):603–15. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S1470-2045\(18\)30142-6](http://dx.doi.org/10.1016/S1470-2045(18)30142-6)
  81. Consoli F, Bersanelli M, Perego G, Grisanti S, Merelli B, Berruti A, et al. Network indirect comparison of 3 BRAF + MEK inhibitors for the treatment of advanced BRAF mutated melanoma. *Clin Transl Oncol.* 2020;22(6):900–7. Available from: <https://doi.org/10.1007/s12094-019-02207-7>
  82. Shirley M. Encorafenib and Binimetinib: First Global Approvals. *Drugs.* 2018;78(12):1277–84. Available from: <https://doi.org/10.1007/s40265-018-0963-x>
  83. Trojaniello C, Festino L, Vanella V, Ascierto PA. Encorafenib in combination with binimetinib for unresectable or metastatic melanoma with BRAF mutations. *Expert Rev Clin Pharmacol.* 2019;12(3):259–66. Available from: <https://doi.org/10.1080/17512433.2019.1570847>