



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS - UFAL  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE- ICBS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – PPGCS

THIAGO PINA GOES DE ARAÚJO

**VIA DE SINALIZAÇÃO DA PI3KS COMO ALVO MOLECULAR PARA TERAPIA  
DO GLIOBLASTOMA: UMA REVISÃO**

MACEIÓ  
2022

THIAGO PINA GOES DE ARAÚJO

**VIA DE SINALIZAÇÃO DA PI3KS COMO ALVO MOLECULAR PARA TERAPIA  
DO GLIOBLASTOMA: UMA REVISÃO.**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Alagoas, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

**Orientadora:** Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Magna Suzana Alexandre Moreira

MACEIÓ  
2022

**Catálogo na fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Central**  
**Divisão de Tratamento Técnico**  
Bibliotecária: Taciana Sousa dos Santos – CRB-4 – 2062

A663v    Araújo, Thiago Pina Goes de.  
    Via de sinalização da PI3KS como alvo molecular para terapia do glioblastoma: uma revisão / Thiago Pina Goes de Araújo. – 2022.  
    47 f. : il. color.

Orientador: Magna Suzana Alexandre Moreira.  
Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. Maceió, 2022.

Bibliografia: f. 37-47.

1. Glioblastoma. 2. Cérebro – Tumores. 3. Fármacos. 4. Fosfatidilinositol 3-quinases (PI3Ks). I. Título.

CDU: 616.83: 615


## Folha de Aprovação

# Thiago Pina Goes de Araujo


### Título

**Via de sinalização da PI3Ks como alvo molecular para terapia do glioblastoma:  
uma revisão**


Dissertação submetida ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Alagoas e aprovada em 31 de agosto de 2022.

Documento assinado digitalmente  
 **MAGNA SUZANA ALEXANDRE MOREIRA**  
Data: 21/09/2022 18:42:30-0300  
Verifique em <https://verificador.iti.br>


Prof. Dr. Magna Suzana Alexandre Moreira (Orientador-PPGCS-UFAL)

Documento assinado digitalmente  
 **ALINE CAVALCANTI DE QUEIROZ**  
Data: 01/09/2022 08:11:24-0300  
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Profa. Dra. Aline Cavalcanti de Queiroz (PPGCS-UFAL)

Documento assinado digitalmente  
 **ANDRESSA LETICIA LOPES DA SILVA**  
Data: 01/09/2022 11:27:42-0300  
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof.<sup>a</sup> Dr. Andressa Leticia Lopes da Silva (UNINASSAU)

Documento assinado digitalmente  
 **THIAGO PINA GOES DE ARAUJO**  
Data: 31/08/2022 15:47:12-0300  
Verifique em <https://verificador.iti.br>

*Aos meus pais, Carlos José Viana de Araújo e Maria Luiza Pina Gois, por toda educação,  
carinho, companheirismo concedidos e por serem minhas fontes de humildade, caráter e  
força de vontade.*

*Ao meu filho, Ihago Vieira Pina Goes por ser minha maior fonte de amor, calma e paz, e por  
ter sido a melhor surpresa que me aconteceu nesse mestrado.*

*DEDICO*

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus por ter me dado a oportunidade de aqui estar hoje, só ele sabe quantas batalhas já passei para chegar até aqui.

Agradeço aos meus pais Maria Luiza (Mãe) e Carlos José (Pai) que silenciosamente sempre torceram por mim, mesmo quando eu não estava por perto, e ainda assim me ensinaram a trilhar um bom caminho nessa vida.

Agradeço também a toda minha família, aos meus irmãos principalmente, por sempre aos seus modos, me incentivarem a continuar nessa jornada.

À minha orientadora, Prof.a Dr.a Magna Suzana Alexandre Moreira, por ter me recebido da melhor maneira possível em seu laboratório (LAFI-UFAL). Agradeço toda a confiança depositada em mim e todos os momentos de convivência, que me fizeram engrandecer em todos os âmbitos.

Aos meus professores, mestres e doutores, que nessa pós-graduação foram fundamentais para que hoje eu pudesse chegar até essa reta final. A todos os meus colegas de curso que me acompanharam durante essa jornada acadêmica, foram ótimos períodos de lutas e vitórias ao lado de vocês.

Agradeço de todo coração aos meus amigos João Kaycke e José Clementino Neto (Zeca), pela paciência, carinho e amizade. Por ter me acudido nos momentos de aperto iniciais e por ter me ensinado a desenvolver as técnicas necessárias para a conclusão experimental desse trabalho. Vocês são instrutores excepcionais, sem vocês, boa parte desse trabalho não existiria.

Não podia deixar de agradecer também aos meus maiores parceiros durante esse tempo de pós graduação, Karolina Jatobá e Eder, pelas manhãs de risadas, conversas, pelo ombro amigo nos momentos difíceis, por tantas vezes terem me ajudado nos experimentos quando eu já estava com a “corda no pescoço” doando seu tempo de bom grado ao auxílio do próximo. Obrigado pela amizade de vocês de sempre, da graduação para a vida.

A todos os Lafianos, que junto comigo caminharam nessa empreitada. Ao João Flávio, Amanda Evelyn, Hilda, Lily, Camila, Marcio, Suelen vocês são os melhores.

Aos meus melhores amigos, por sempre estarem ao meu lado: Gilnison Ramos, Emaunela Godoi, Nilda Monteiro, Natanielly Duarte, Ana Paula Santiado, Juliana Tadeu, Eriane Alves, Eder Rocha, Karoline Jatobá, Maria Souza.

Agradeço ao Vale do Amanhecer, pela força espiritual que me sustentou durante alguns dos meus momentos mais difíceis. E aos Peregrinos EcoAdventure pelos momentos de lazer e

suporte financeiro, e a todos aqueles peregrinos que se tornaram também meus amigos e que hoje fazem parte do meu dia a dia.

A todos os técnicos, servidores e funcionários da Ufal que direta ou indiretamente trabalharam para minha permanência nessa instituição. E agradeço a Universidade Federal de Alagoas - UFAL e ao Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde - ICBS e ao Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde – PPGCS pela oportunidade do aprendizado.

E por fim, a todos aqueles que torceram por mim durante essa trajetória.

***Muito Obrigado!***

*“Isso de ser exatamente o que se é, ainda vai nos levar além.”*

*Paulo Leminski*



## RESUMO

O glioblastoma (GBM) é o tipo de câncer mais comum do sistema nervoso central (SNC). Atualmente representa cerca de 2% dos tumores malignos diagnosticados, com 296.000 novos casos relatados a cada ano. O tratamento padrão-ouro consiste em ressecção cirúrgica, radioterapia e quimioterapia adjuvante que aumenta a sobrevida dos pacientes em 15 meses e poucos sobrevivem mais de 5 anos após o diagnóstico. Novas pesquisas clínicas e pré-clínicas visam melhorar esse prognóstico ao propor a busca por novos fármacos que atuem de forma eficaz na eliminação das células cancerígenas contornando problemas como a resistência ao tratamento. Uma das estratégias terapêuticas promissoras no tratamento do GBM, consiste na inibição da via da fosfatidilinositol 3-quinases (PI3Ks) que está intimamente relacionada ao processo de carcinogênese tumoral. Essa revisão buscou abordar os principais estudos científicos de protótipos de fármacos sintéticos ou naturais que visam a terapia específica co-direcionada a via PI3Ks, contra o glioblastoma humano.

**Palavras-chave:** Glioblastoma, terapia, fosfatidilinositol 3-quinases (PI3Ks).

## **ABSTRACT**

Glioblastoma (GBM) is the most common type of cancer of the central nervous system (CNS). It currently accounts for about 2% of diagnosed malignant tumors, with 296,000 new cases reported each year. The gold standard treatment consists of surgical resection, radiotherapy and adjuvant chemotherapy that increase patients' survival by 15 months and few survive more than 5 years after diagnosis. New clinical and pre-clinical research aims to improve this prognosis by proposing the search for new drugs that act effectively in the elimination of cancer cells, circumventing problems such as resistance to treatment. One of the promising therapeutic strategies in the treatment of GBM is the inhibition of the phosphatidylinositol 3-kinases (PI3Ks) pathway, which is closely related to the tumor carcinogenesis process. This review sought to address the main scientific studies of synthetic or natural drug prototypes aimed at specific therapy co-directed via the PI3Ks pathway, against human glioblastoma.

**Keywords:** Glioblastoma, therapy, phosphatidylinositol 3-kinases (PI3Ks).

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Mecanismos de iniciação da carcinogênese .....	15
Figura 2 - Esquema representativo da classificação atual dos gliomas, segundo a OMS (2021).....	17
Figura 3 - Via de ativação da PI3K no câncer .....	20
Figura 4 - Ativação e bloqueio da via PI3ks em GBM .....	23
Figura 5 - Estratégias terapêuticas combinadas, contra o GBM .....	30

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Números estimados de câncer do SNC no mundo em 2020, por ambos os sexos e todas as idades.....	16
Tabela 2 - Estudos pré-clínicos de substâncias via inibição PI3Ks (2017-2022) .....	25
Tabela 3 - Tabela 3 – Estudos clínicos de substâncias via inibição PI3Ks (2017-2022) .....	29

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

°C	Graus Celsius
μL	Microlitros
μM	Micromolar
ANOVA	Análise de Variância
BAX	<i>Bcl-2-Associated X protein</i> (proteína X associada à Bcl-2)
BEV	Bevacizumabe
BHE	Barreira Hematoencefálica
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i> (ácido desoxirribonucleico)
EGF	<i>Epidermal Growth Factor</i> (fator de crescimento epidermal)
EGFR	<i>Epidermal Growth Factor Receptor</i> (receptor do fator de crescimento epidermal)
FDA	<i>Food and Drug Administration</i> (administração de fármacos e alimentos)
FGF	<i>Fibroblast Growth Factor</i> (fator de crescimento de fibroblastos)
GBM	Glioblastoma Multiforme
Hab	Habitantes
IDH1	Isocitrato-Desidrogenase 1
IDH2	Isocitrato-Desidrogenase 2
IGF	<i>Insulin Growth Factor</i> (fator de crescimento semelhante à insulina)
INCA	Instituto Nacional do Câncer
Kg	Quilogramas
MEC	Matriz Extracelular
Mg	Miligramas
MMPs	<i>Matrix Metalloproteinases</i> (metaloproteinases da matriz)
MTIC	5-(3-metiltriazen-1-il)imidazol-4-carboxamida
NF1	Neurofibromatose tipo 1
O <sub>2</sub>	Oxigênio
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Ânion superóxido
OH	Grupamento hidroxila
OH <sup>-</sup>	Ânion hidroxila
OMS	Organização Mundial da Saúde
p53	Proteína de reparo do ácido desoxirribonucleico

PDGFR	<i>Platelet-Derived Growth Factor Receptor</i> (receptor do fator de crescimento derivado de plaquetas)
PI3KC	<i>Phosphoinositide 3-Kinases</i> (fosfatidilinositol-3-cinase)
PNs	Produtos Naturais
PTEN	<i>Phosphatase and Tensin Homolog</i> (homólogo a fosfatase e tensina)
PUMA	<i>p53 Upregulated Modulator of Apoptosis</i> (modulador de apoptose regulado por p53)
QT	Quimioterapia
RM	Ressonância Magnética
RNA	<i>Ribonucleic Acid</i> (ácido ribonucleico)
RT	Radioterapia
SNC	Sistema Nervoso Central
SOD	Superóxido Desmutase
TC	Tomografia computadorizada
TGF- $\beta$	<i>Transforming Growth Factor Beta</i> (fator de crescimento transformador beta)
TMZ	Temozolamida
TNF	<i>Tumoral Necrose Factor</i> (fator de necrose tumoral)
TNFR	<i>Tumoral Necrose Factor Receptor</i> (receptor do fator de necrose tumoral)
VEGF	<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i> (fator de crescimento do endotélio vascular)
VEGFR-1	<i>Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 1</i> (receptor 1 do fator de crescimento do endotélio vascular)
VEGFR-2	<i>Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 2</i> (receptor 2 do fator de crescimento do endotélio vascular)

## SUMÁRIO

<b>1 JUSTIFICATIVA</b> .....	14
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	14
<b>2.1 Objetivo geral</b> .....	14
<b>2.2 Objetivos específicos</b> .....	14
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	14
<b>3.1 Glioblastomas</b> .....	14
<b>3.2 Via das PI3KS</b> .....	19
<b>3.3 Ativação e bloqueio da via PI3KS em glioblastoma</b> .....	22
<b>4 ENSAIOS EXPERIMENTAIS (PRÉ-CLÍNICOS)</b> .....	24
<b>4.1 Substâncias de derivados naturais</b> .....	25
<b>4.2 Fármacos sintéticos/semissintéticos</b> .....	28
<b>5 ENSAIOS EXPERIMENTAIS CLÍNICOS</b> .....	29
<b>5.1 Ensaio clínico de fase I e II</b> .....	30
<b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	36
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	37

## **1 JUSTIFICATIVA**

Considerando que os Glioblastoma multiforme (GBM) são a forma mais comum e agressiva de tumores cerebrais malignos originados no sistema nervoso central, cujo o tratamento padrão ouro atualmente utilizado no manejo clínico dos pacientes não se configurar em bons prognósticos de cura, e tendo como necessária a pesquisa de novos fármacos que visam a eliminação completa das células cancerígenas do GBM. O estudo da ação, inibição ou bloqueio da via PI3K, que está intimamente relacionada ao processo carcinogênico do GBM, poderá fornecer informações relevantes para a melhoria da eficácia no tratamento de pacientes acometidos por essa enfermidade. Com esse intuito, esse trabalho visa elencar as principais pesquisas publicadas nos últimos 5 anos no meio científico direcionados a via de sinalização da PI3KS como alvo molecular para terapia do GBM.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GERAL**

Elaborar uma revisão integrativa sobre os principais estudos clínicos e pré-clínicos de substâncias sintéticas ou naturais que visam a terapia co-direcionada a via PI3Ks, contra o glioblastoma humano (GBM).

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Revisar os estudos pré-clínicos *in vitro* de substâncias naturais contra a via PI3ks em glioblastoma;
- Revisar os estudos pré-clínicos *in vivo* de substâncias naturais contra a via PI3ks em glioblastoma;
- Discutir sobre os principais estudos clínicos com terapia alvo a inibição da via PI3ks em glioblastoma.

## **3 REVISÃO DE LITERATURA**

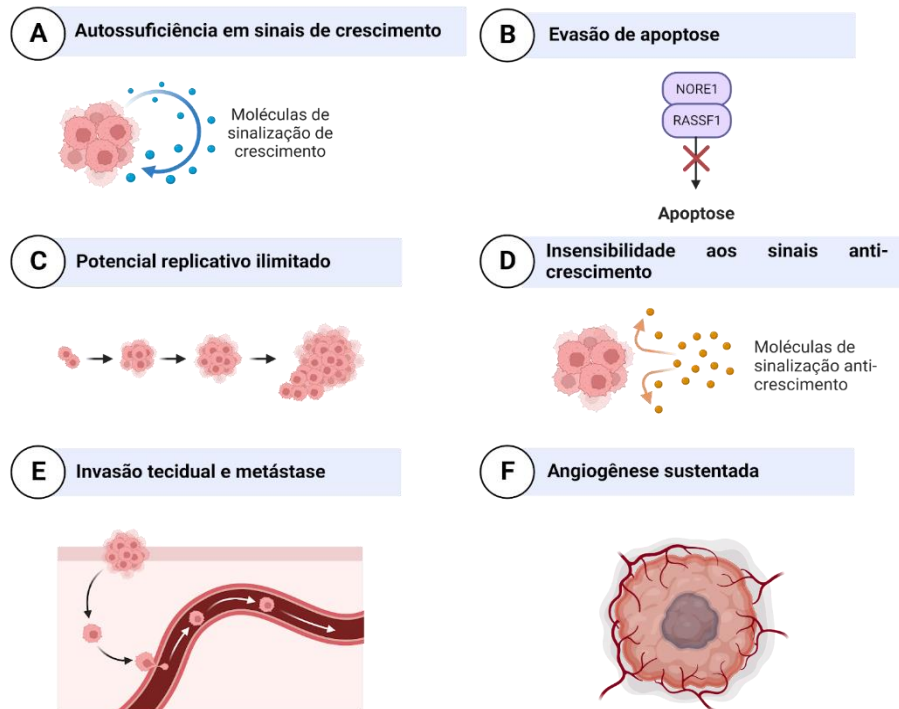
### **3.1 GLIOBLASTOMAS**

Câncer é um termo que abrange mais de 100 diferentes tipos de doenças malignas caracterizadas pelo crescimento desordenado e diferenciado de células com alta capacidade mitótica que podem invadir outros tecidos e proliferar-se para órgãos adjacentes (1). Os proto-oncogenes são genes que possuem mutações genéticas e estão associados como os principais



fatores à regulação e desenvolvimento no processo carcinogênico ao atuar na transmissão de sinais como fatores de crescimento (Figura 1) (2).

**Figura 1 - Mecanismos de iniciação da carcinogênese.**



Fonte: Autor (2022)

A progressão e o crescimento do tumor são estimulados por mudanças moleculares, celulares e físicas significativas dentro de seus tecidos hospedeiros, conferindo uma heterogeneidade específica para cada tipo de câncer diagnosticado, estudos afirmam que o microambiente onde o tumor se encontra também influencia na proliferação tumoral principalmente associados a presença de células imunes, células estromais, vasos sanguíneos e matriz extracelular no microambiente local (3).

Cerca 1-2% de todos os cânceres diagnosticados mundialmente estão localizados no sistema nervoso central (SNC), onde a cada ano, 296.000 novos casos são relatados com uma maior prevalência em indivíduos do sexo masculino (4,2/100.000 hab)(4). Aproximadamente 88% dos tumores do SNC tem como precursores células gliais e ocorrem comumente em tecidos do cérebro, nervos cranianos e meninges (5). Apesar da baixa incidência, mais de 251.000 indivíduos morrem a cada ano devido a tumores localizados nessa região, o que equivale a 2,5% da mortalidade geral mundial por câncer (Tabela 1) (6).

**Tabela 1 – Números estimados de câncer do SNC no mundo em 2020, por ambos os sexos e todas as idades.**

População	Incidência	Mortalidade	Prevalência em 5 anos
Ásia	166.925 (3.2)	137.646 (2.6)	435.532 (9.4)
Europa	67.114 (5.7)	53.680 (4.0)	197.846 (26.4)
América do Norte	27.526 (5.4)	20.690 (3.3)	85.937 (23.3)
América do Sul e Caribe	25.835 (3.5)	22.176 (2.9)	68.999 (10.6)
África	18.264 (1.9)	15.157 (1.7)	41.311 (3.1)
Oceania	2.438 (4.3)	1.980 (3.3)	7.527 (17.6)
Total	308.102	251.329	837.152

Nota: Fonte de dados GLOBOCAN 2020 (7) (Agência Internacional de Pesquisa em Câncer), taxas padronizadas por idade (ASR) por 100.000.

Fonte: Autor (2022)

Em 2007, a Organização Mundial da Saúde (OMS) divulgou um estudo que classificava os tumores cerebrais do SNC em quatro diferentes grupos que diferem entre os graus de I a IV e levava-se em consideração apenas critérios do perfil histopatológico analisados dos tecidos coletados durante os procedimentos cirúrgicos de remoção do tumor, sendo os tumores de grau III e IV considerados os mais graves(8). Dentre os tumores do SNC, os GBM se configuram como sendo o tipo histopatológico mais agressivo e frequente que representa cerca de 40% a 55% dos tumores malignos primários do cérebro e do SNC e 54% de todos os gliomas (9) sendo mais comum em indivíduos na faixa etária adulta entre 45 a 85 anos (10).

Boa parte desses índices está relacionada a decorrência das características físico-químicas encontradas nas células tumorais, que lhe conferem uma ampla heterogeneidade fenotípica inter e intratumoral que se traduz em alterações histológicas, moleculares e genéticas que por conseguinte proporcionam altas capacidades de proliferação, migração, invasão, e resistência ao tratamento (11). Os efeitos advindos dessa heterogeneidade são abrangentes e

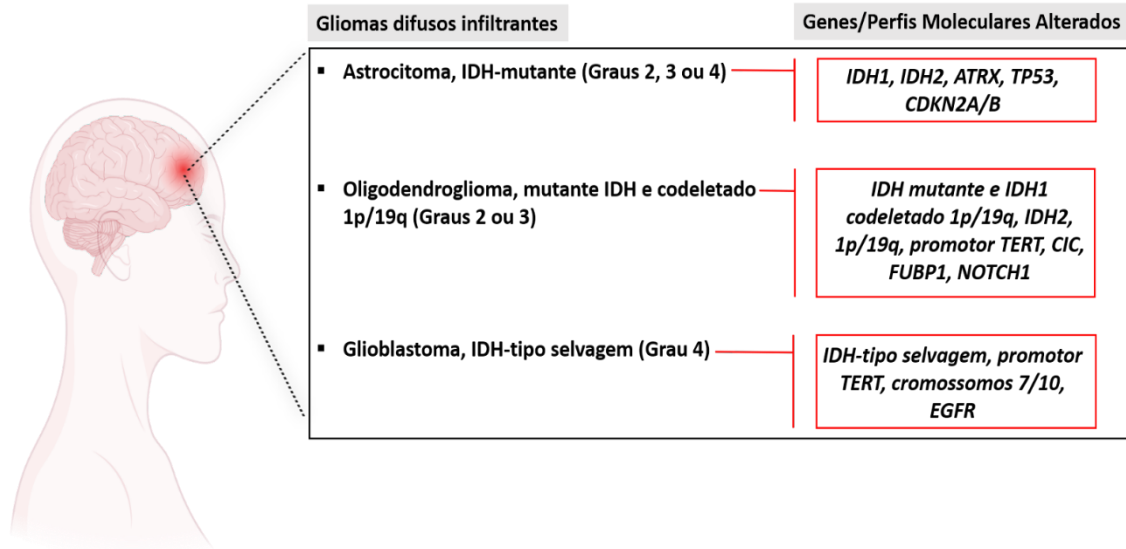
resultam em quadros de prognósticos desfavoráveis aos pacientes, cuja sobrevida média é de 6 a 15 meses após o diagnóstico e apenas 5% destes, raramente sobrevivem mais do que 5 anos(12).

A primeira cirurgia em um paciente acometido por GBM ocorreu em Viena, 1904 e até então, pouco se sabia a respeito das particularidades fenotípicas referentes a esse tipo de tumor(13). Com os novos avanços em pesquisas direcionadas ao GBM nas décadas seguintes, em 2016, a Organização Mundial da Saúde (OMS) reformulou a classificação que estava vigente desde 2007 para os tumores do SNC, e propôs novos critérios de diagnóstico levando em consideração não somente os aspectos histopatológicos como também os perfis moleculares e genéticos no agrupamento dos diferentes tipos de tumores cerebrais(14).

Em uma nova atualização no ano de 2021, a OMS atualizou os biomarcadores moleculares de diferentes tipos de tumores cerebrais, enfatizou o uso de algarismos arábicos para pontuação e a importância dos critérios diferenciais para a classificação das neoplasias do SNC(15). Tais recomendações trouxeram mais benefícios e orientações significativas para a prática clínica, pois contribuíram para avanços no diagnóstico diferencial dos pacientes e proporcionaram tratamentos mais direcionados a tumores cuja características fossem semelhantes (16).

Por essa nova classificação, os gliomas permaneciam classificados em quatro graus (Figura), dos quais grau 1 e 2 representam gliomas de baixo grau, enquanto os graus 3 e 4 os de alta malignidade(17). Sendo assim, todos os gliomas infiltrados difusamente (astrocíticos ou oligodendrogliais), considerados os mais recorrentes no diagnóstico, foram agrupados nos graus 2 a 4 com base não apenas em seu padrão de crescimento e comportamentos, mas também mais especificamente nas mutações genéticas compartilhadas referente aos genes da isocitrato desidrogenase (IDH)(18).

**Figura 2 - Esquema representativo da classificação atual dos gliomas, segundo a OMS (2021).**



Fonte: Autor (2022)

No que se refere aos GBM agrupados no grau 4, a subdivisão se configura em: I. glioblastoma, IDH tipo selvagem (cerca de 90% dos casos), que corresponde mais frequentemente ao conhecido clinicamente como glioblastoma primário, mais letal e cuja predominância é em pacientes com mais de 55 anos de idade; II. glioblastoma, IDH tipo mutante (cerca de 10% dos casos), mais brando e que corresponde intimamente ao chamado glioblastoma secundário com história de glioma difuso de grau inferior prévio e surge preferencialmente em pacientes mais jovens; e III. glioblastoma, NOS, diagnóstico reservado para aqueles tumores para os quais a avaliação completa da IDH não pode ser realizada ou é inconclusiva (19).

As diferenças encontradas nos perfis genéticos e epigenéticos do GBM, ainda permite classificá-los em subtipos distintos como clássico, mesenquimal, proneural e neural (20). Fatores moleculares diversos já foram descritos que contribuíram para essa subclassificação no processo de gliomatogênese como: o ponto de controle de ciclo celular na fase G1/S que é desregulado (21), amplificação de genes como EGFR, FGFR2, IRS2 e AKT3, além das mutações em PTEN, TP16, TP53, PARK2 e NF1 (22).

A sintomatologia característica do GBM é bem variável e geralmente está associada às regiões subjacentes ou não ao córtex cerebral onde o tumor se localiza e de acordo com o tamanho da massa tumoral (23). Os sintomas mais recorrentes são náuseas, vômitos, convulsões, alterações neurológicas focais, edema perilesional, perda de cognição e motora, além de problemas auditivos e visuais. Metástases são raramente observadas, e quando ocorrem invaginam pelo líquido cefalorraquidiano (24) ou o tecido sanguíneo (25) migrando para os pulmões, gânglios linfáticos, fígado, ossos entre outros órgãos (26).

O diagnóstico diferencial dos pacientes com GBM é realizado por meio de técnicas como a Tomografia Computadorizada (TC) e ressonância magnética (RM), que representam mínimos riscos ao paciente por serem procedimentos não invasivos. Dentre essas, a RM é a mais recomendável por ser possível obter imagens que representam de maneira mais clara a complexidade e heterogeneidade do tumor (27). Em adição às técnicas não invasivas de diagnóstico, o diagnóstico definitivo e específico para o subtipo de GBM, é feito por meio da análise do perfil genético e histopatológico do tecido tumoral obtidos por meio de procedimento invasivo de ressecção cirúrgica.(28)

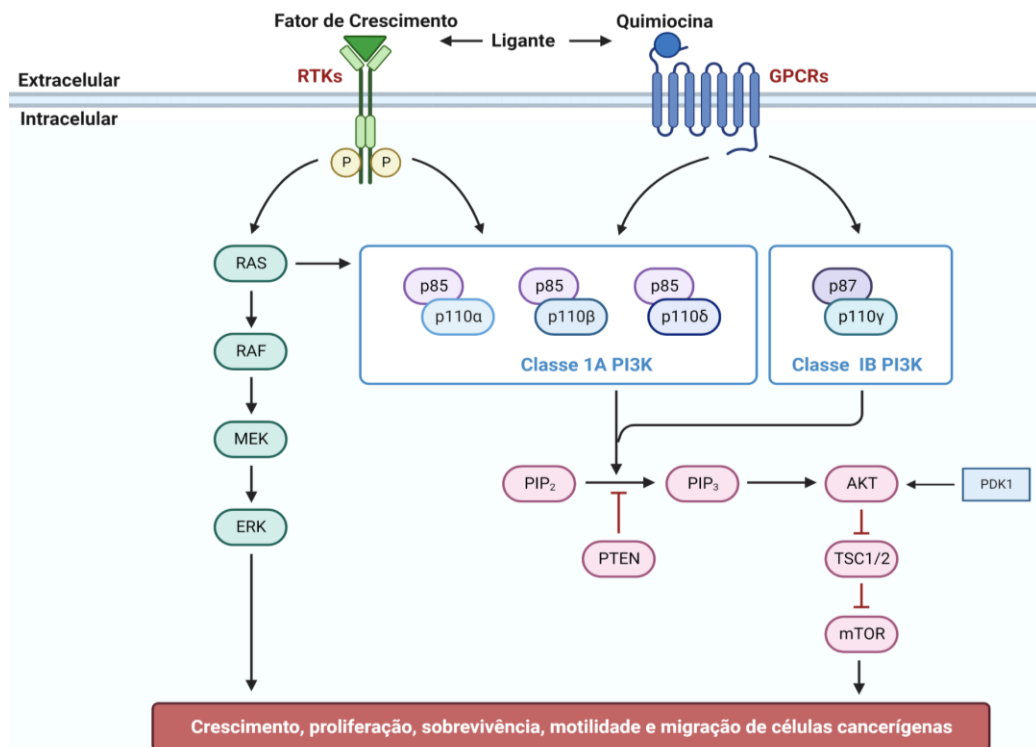
O procedimento de ressecção cirúrgica também consiste na primeira linha de tratamento aos pacientes acometidos com GBM, adicionados a radioterapia e quimioterapia adjuvante com o fármaco padrão da Temozolomida (TMZ), um pró-fármaco alquilante de DNA, são considerados como o método padrão-ouro no manejo clínico dos pacientes (29). No entanto, a eficácia terapêutica a longo prazo é limitada devido à invasividade desta malignidade, muitas vezes não é possível a remoção completa do tumor e as células remanescentes voltam a se proliferar (30); além de existir uma limitação do agente quimioterápico que não consegue atingir o tumor devido à barreira hematoencefálica (BHE), que causa toxicidade sistêmica e efeitos colaterais, reduzindo a eficácia máxima (31); e por último, a resistência farmacológica interna ao agente que as células tumorais desenvolvem, minimizando o efeito da quimioterapia (32). Portanto, grandes obstáculos permanecem antes que o glioma possa ser completamente curado.

### **3.2 VIA DAS PI3KS**

A fosfoinositídeo 3-quinase ou fosfatidilinositol 3-quinases (PI 3-quinases ou PI3Ks) são um grupo de enzimas envolvidas em funções celulares que variam desde o crescimento celular, proliferação, diferenciação, mobilidade, como na sobrevivência e migração, as quais, quando sofrem alguma alteração, podem estar envolvidas com o surgimento do câncer, atuando no desenvolvimento de tumores(33). As famílias de proteínas PI3Ks foram encontradas pela primeira vez há mais de 28 anos relacionadas com a capacidade de promover mudanças em oncoproteínas virais(34). São um grande grupo de enzimas lipídicas sinalizadoras constituídas de três subunidades - subunidade regulatória p85, subunidade reguladora p55 e subunidade catalítica p110, que são capazes de fosforilar o grupo 3'-OH dos fosfatidilinositóis (PtdIns) na membrana plasmática. De acordo com suas diferentes estruturas e substratos específicos, a PI3K é dividida em 3 classes: classes I, II e III(35).

As PI3Ks de classe I podem ser subdivididas individualmente em duas classes com base em sua vias de regulação: classe I A (PI3K $\alpha$ , PI3K $\beta$  e PI3K $\delta$ ) e classe I B (PI3K $\gamma$ )(36), ambas são considerados as classes mais importantes envolvidas no desenvolvimento de tumores (37). A via PI3K Classe I é ativada por meio da ligação de fatores de crescimento (incluindo HER, FGFR e IGF-1) que se ligam à membrana plasmática celular por meio de receptores tirosina quinase (RTKs - Receptors Tyrosine Kinases), também presentes na membrana da célula. Essa ligação provoca uma cascata de sinalização intracelular que começa com a ativação da molécula PI3K (Phosphatidylinositol-3-kinase) que fosforila fosfatidilinositol 4,5-bifosfato (PIP<sub>2</sub>) em fosfatidilinositol 3,4,5-trifosfato (PIP<sub>3</sub>)(Figura 3). O acúmulo da PIP<sub>3</sub> na membrana plasmática favorece o recrutamento da proteína quinase B (AKT), um mediador central da via PI3K, e a quinase 1 (PDK1) dependente de fosfoinosítídeo, para ativação (38).

**Figura 3 - Via de ativação da PI3K no câncer.**



Fonte: Autor (2022)

Uma vez fosforilada e ativada, AKT pode estimular os efeitos a jusante pela ativação do alvo de rapamicina em mamíferos (mTOR - Mammalian Target of Rapamycin), que trata-se de uma serina/treonina quinase responsável por regular o crescimento e a proliferação celular(39, 40). A proteína supressora de tumor fosfatase e homólogo de tensina deletado no cromossomo 10 (PTEN) regula essa via e catalisa a desfosforilação de PIP<sub>3</sub> para PIP<sub>2</sub>, agindo assim como um regulador negativo da sinalização PI3K previne a ligação das quinases a via

(41). Essa via de sinalização mediada pela PI3K de classe I (PI3K/AKT/mTOR) está frequentemente alterada em diversas neoplasias malignas, incluindo as de cabeça e pescoço, geralmente associados a mutações, perda ou inativação da PTEN que culmina promovendo proliferação descontrolada e evasão à apoptose de células tumorais (42,43).

As PI3Ks de classe IB são ativadas via receptores acoplados à proteína G (GPCRs) formam heterodímeros consistindo em p110 $\gamma$  como subunidade catalítica com outras subunidades reguladoras, como p101, p87 ou p84 (44). Esta classe consiste em três isoformas (PI3K-C2 $\alpha$ , PI3K-C2 $\beta$  e PI3K-C2 $\gamma$ ). Essas isoformas têm um domínio de ligação a RAS (RBD), um domínio helicoidal e um domínio catalítico, mas não possuem um domínio regulador (45).

Os monômeros da Classe II das PI3Ks são moléculas com maior massa molecular que são divididas em três tipos diferentes de proteínas (PI3K-C2 $\alpha$ , PI3K-C2 $\beta$  e PI3K-C2 $\gamma$ ) possuem uma extensão C-terminal conservada com os domínios PX e C2 que é exclusiva das isoformas de classe II e provavelmente é responsável pela associação com membranas plasmáticas contendo PI(4,5)P<sub>2</sub>, e uma região N-terminal estendida com regiões de ligação a proteínas adicionais (46). Dentre todas as PI3K descobertas, ainda não está bem elucidada sobre o papel de atuação desta classe nos processos celulares extrínsecos e se configura como sendo a menos caracterizada. Porém, de acordo com estudos recentes há indícios que desempenham função sobre a regulação da autofagia(47). Alguns dos papéis intracelulares de atuação por membros de PI3Ks de classe II já é sabidamente compreendido, por exemplo, PI3K-C2 $\alpha$  tem funções na célula, como transporte de glicose, liberação de grânulos neurosecretores, secreção de insulina, endocitose, crescimento e sobrevivência celular (48). Em contrapartida PI3K-C2 $\beta$  atua na migração celular, ativação do canal K<sup>+</sup>, crescimento e sobrevivência celular e progressão do ciclo celular, enquanto a PI3K-C2 $\gamma$  desempenha um papel importante no *homing* de células leucêmicas(49).

A última das classes de PI3K também é a única que é expressa em todos os organismos eucarióticos. A PI3K de classe III possui um único representante, que também é conhecido como vacuolar protein sorting 34 (Vps34), e tem seu papel estabelecido na regulação e transporte vesicular intracelular em várias etapas por meio da produção de fosfatidilinositol-3-fosfato (50).

Por estar intimamente relacionada ao surgimento de neoplasias malignas, as vias de ativação da PI3K têm recebido destaque em pesquisas que visam a busca por novos tratamentos contra o câncer (PI3K $\alpha$ ), além de outras doenças como trombooses (PI3K $\beta$ ) e doenças inflamatórias (PI3K $\gamma$  e PI3K $\delta$ ), por esse tipo de abordagem terapêutica apresentar o mínimo de

efeitos colaterais (51). Em relação ao processo de carcinogênese, como os tumores existem em ambientes estressantes, o papel desta via no câncer parece ser crucial e muitos medicamentos que inibem vários componentes alvos específicos de ativação da via PI3K estão agora em ensaios pré-clínicos e clínicos (52). Os desafios terapêuticos são para alcançar o controle da ativação patológica focando nas diferentes isoformas de PI3K, que poderão ser a chave para o entendimento e controle de PI3K em doenças (53).

### **3.3 ATIVAÇÃO E BLOQUEIO DA VIA PI3Ks EM GLIOBLASTOMA**

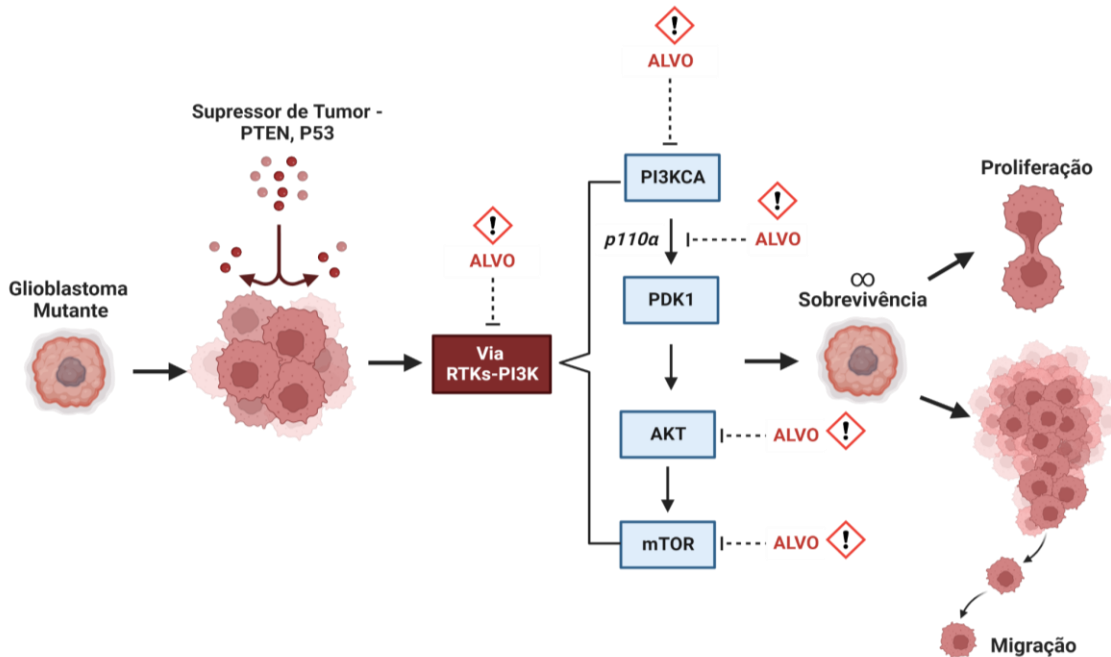
Os GBM se constituem como uma entidade tumoral cuja via de sinalização da PI3K possui altas taxas de ativação (54). Aproximadamente 88% dos GBM diagnosticados, principalmente os de IDH tipo selvagem, possuem mutações pontuais que ativam a via PI3K (55) principalmente relacionados aos receptores de tirosina quinases EGFR/EGFRvII (40%), inativação da PTEN (33%) ou mutações ativadoras de PI3K (17%), promovendo uma sinalização exagerada da via, que resulta na proliferação e evasão à apoptose das células do GBM (56). No primeiro momento, fatores oncogênicos associados à tumorigênese do GBM promovem a mutação e conseqüentemente a perda da função da fosfatase supressora de tumor(p53) e da PTEN, duas proteínas que regulam diretamente a atividade anticarcinogênica em células saudáveis (57,58). Em decorrência dessa deleção seletiva, as mutações da via PI3K em GBM também estão intimamente relacionadas com uma das cascatas de sinalização de sobrevivência PI3K/Akt/mTOR, particularmente porque a PTEN atua como regulador negativo dessa via (59).

Em resumo, esta via é ativada direta ou indiretamente através do complexo p85-p110 ou RAS, respectivamente, devido a acumulação de um dos produtos da PI3K, ofosfoinositol 3, 4, 5-trifosfato (PIP3). Em decorrência dessa acumulação, a AKT promove o reconhecimento da PIP3, que estimula a progressão do ciclo celular e inibe a apoptose e, subsequentemente, promove o crescimento celular das células cancerígenas através da sinalização do alvo de rapamicina (mTOR) dos mamíferos (60). Uma vez ativada a via mutante da PI3K, a cascata de sinalização atua nos efetores a jusante AKT e mTOR (Figura 4). Essa ligação direta estabelecida entre mTOR e PI3K/Fosfatase e via de sobrevivência homóloga de tensão (PTEN)-Akt, se apresenta como um importante alvo terapêutico anti-GBM (61). Estudos já evidenciaram que a mutação de genes amplificados ou ativados de PIK3CA ou PIK3R1 que são responsáveis por codificar a subunidade p110a de PI3K ou a subunidade reguladora p85 de PI3K, respectivamente, estão presentes em 15% dos pacientes com neuroblastoma (62), e que o mesmo mecanismo pode estar associado ao fenótipo invasivo do GBM(59), tanto em termos de



motilidade quanto de sobrevivência sob estresse, o que se sugere um papel chave para a inibição seletiva de PI3K na terapia GBM, sendo considerada uma adição promissora ao nosso arsenal terapêutico. uma vez que essa inibição caracterize um potencial efeito antiproliferativo e anti-invasivo nessas células (63).

**Figura 4 - Ativação e bloqueio da via PI3ks em GBM.**



Fonte: Autor (2022)

Levando em consideração o papel da PI3k e seus subprodutos na gliomatogênese, pode-se propor possíveis alvos terapêuticos no desenvolvimento de fármacos contra o glioblastoma seja na inibição do ligante ao sítio catalítico do receptor tirosina quinase EGFR/EGFRvIII (64), bloqueio da ativação da PI3KCA e consequentemente a subunidade p110 $\alpha$ , ou a inativação das unidades efetoras da AKT e mTOR a jusante da via PI3K (65). Pesquisas apontam a necessidade de fármacos ideais que atuem em mais de um sítio catalítico ou terapias combinadas à via da PI3K, a fim de suprimir seletivamente a proliferação tumoral antes que as células possam criar formas adaptativas frente ao desafio terapêutico (66). No entanto, ainda há muito o que se compreender acerca da atuação da via PI3K nesse processo e principalmente a sua interação com as demais vias de atuação nas células tumorais (67).

No que se diz a respeito aos desafios enfrentados a uma terapia efetiva visando a inibição ou bloqueio da PI3K em GBM, alguns fatores são cruciais a fim de contornar possíveis problemas apresentados no manejo clínico dos pacientes(68), dentre eles: (1) Barreira Sanguínea Cerebral, que limita a ação de drogas direcionadas em atingir concentrações efetivas.

(2) Heterogeneidade do GBM, a eficácia e sensibilidade do medicamento é influenciado pela origem genética do tumor cuja a diferença fenotípica do mesmo tumor pode variar de acordo com o local onde se encontra e em indivíduos diferentes. (3) A ativação de vias alternativas que leva ao escape imune, onde as informações do perfil de ativação de vias alternativas na dinâmica farmacocinética concomitantemente ao tratamento ainda é muito limitante e poucos ensaios clínicos avaliaram esse perfil de forma eficaz(69).

Os inibidores de PI3K são subdivididos em inibidores duplos de PI3K/mTOR, inibidores pan-PI3K e inibidores específicos de isoforma (70). Atualmente, uma série de estudos com inibidores direcionados à via EGFR e PI3K/Akt/mTOR são avaliados em ensaios pré-clínicos e clínicos como agente único ou combinados com o tratamento convencional anti-GBM (71). Desta forma, essa revisão visa apresentar os avanços alcançados até o momento dos estudos científicos que tem como foco o tratamento co-direcionado a via PI3K contra o GBM, um tipo de câncer tão letal e implacável nos dias de hoje.

#### **4 ENSAIOS EXPERIMENTAIS (PRÉ-CLÍNICOS)**

Mesmo após décadas de estudos intensivos, a rede reguladora de progressão do Glioblastoma (GBM) permanece incerta e pouco compreendida. Isso dificulta o desenvolvimento de tratamentos mais eficazes e direcionados, de forma a se evitar efeitos adversos advindos da terapia clínica como propriedades farmacocinéticas ruins, surgimento de vias de resistência, heterogeneidade intratumoral complexa entre outros (72). Uma das primeiras linhas de pesquisa preliminares em estudos pré-clínicos na busca de novos fármacos como protótipos que visam a novos tratamentos de doenças consiste em ensaios in vitro e in vivo (73). O primeiro, consiste em ensaios onde por meio de ambientes controlados em tubos de ensaios ou placas de cultivos de células, é possível avaliar a citotoxicidade celular, alterações morfológicas, efeitos anti-migratórios, o perfil de morte celular e indução a apoptose dos candidatos a fármacos tanto em células de interesse no estudo, quanto em células residentes do hospedeiro (74). Já os ensaios in vivo visam identificar níveis seguros de eficácia e toxicidade dos fármacos, ajudando a garantir que um medicamento represente o menor risco possível e efeitos colaterais quando é administrado aos humanos (75).

Nos últimos 5 anos, alguns estudos de protótipos de fármacos e terapias contra o glioblastoma in vitro e in vivo via PI3K entraram em fase de desenvolvimento e outros, já divulgados no meio científico, se mostraram promissores para as fases seguintes na cadeia de desenvolvimento de novos fármacos (Tabela 2). Nessa revisão, abordaremos alguns resultados encontrados dentre as principais classes de fármacos, naturais, sintéticos e semissintéticos.

Tabela 2 – Estudos pré-clínicos de substâncias via inibição PI3Ks (2017-2022)

Substâncias	Origem	Tipo de Ensaio	Principais resultados	Revista	Referência
<b>Taxifolina</b>	Natural	<i>In vitro</i> , <i>In vivo</i>	Inibição da via mTOR/PI3K	Journal of Oncology	Yao et al; 2021.
<b>Demetoxicurcumina (DMC)</b>	Natural	<i>In vitro</i>	Inibição da migração e invasão, via PI3K/Akt e NF-κB	Anticancer Research	Su et al, 2021.
<b>Doramectina (DRM)</b>	Semissintético	<i>In vitro</i> , <i>In vivo</i>	Indução da autofagia, bloqueio da via PI3K/AKT/mTOR	International Journal of Oncology	Chen et al, 2022.
<b>Resveratrol</b>	Natural	<i>In vitro</i>	Bloqueio da PI3k/AKT e indução da p53	Journal of Neurosurgery	Clark et al, 2017.
<b>Grincamicina (GCN)</b>	Natural	<i>In vitro</i>	Supressão da proliferação pela via PI3K/AKT	Chemical Neuroscience	Yao et al, 2020.
<b>Etoposídeo (VP16)</b>	Semissintético	<i>In vitro</i>	Regulação negativa da via PI3K/AKT/mTOR reversão a resistência.	The Royal Society of Chemistry	Wang et al, 2018.
<b>Ibrutinib</b>	Sintético		Indução da autofagia, bloqueio da via PI3K/AKT/mTOR	Journal of Experimental & Clinical Cancer Research	Wang et al, 2017.

Fonte: Autor (2022)

#### 4.2 SUBSTÂNCIAS DE DERIVADOS NATURAIS

Atualmente, os produtos naturais isolados de fontes vegetais estão sendo investigados como agentes quimiopreventivos, bem como na formulação e desenvolvimento de novas drogas de interesse farmacológico e para a clínica médica. Descobertas recentes implicam que a presença de uma variedade de fitoquímicos e seus produtos secundários nesses derivados

vegetais, possuem uma diversidade de compostos que adquirem inúmeros resultados biológicos incluindo atividades antioxidantes e anticancerígenas(76).

No estudo desenvolvido por Yao e colaboradores em 2021(77), foi analisada a ação inibitória da taxifolina na via mTOR/PI3K das células do GBM. Esta substância é uma flavanona (flavonoides) comumente encontrada em uma planta medicinal conhecida popularmente como cardo mariano (*Silybum marianum*) (78). Nos ensaios com a taxifolina foram utilizadas cinco linhagens de células de glioma humano (U87, LN229, SF188, A1207 e SF767) que possuem mutações variadas nos loci da PTEN ou da p53. Nos resultados in vitro encontrados dos tratamentos das células, foi comprovado a ação da taxifolina em inibir efetivamente a atividade da via de ativação mTOR/PI3K que levou a níveis diminuídos dos anticorpos primários (p-AKT e p-rpS6), estabelecendo uma regulação negativa com AKT total inalterado e diminuição sem efeito sobre rpS6 total. Além disso, foi observado que a viabilidade celular diminuiu com o aumento das concentrações de taxifolina em todas as linhagens celulares de glioma estudadas. Nos ensaios em modelo animal, a taxifolina ao se ligar ao sítio de ligação da rapamicina de mTOR e no sítio catalítico de PI3K (p110 $\alpha$ ), promoveu a autofagia, suprimiu a síntese de lipídios no GBM, diminuiu efetivamente o crescimento tumoral, além de ter aumentado a taxa de sobrevivência dos camundongos como resultado do tratamento. Essas observações apontam para a taxifolina como uma droga potencial para uso no tratamento de direcionamento duplo mTOR/PI3K em glioblastoma, que já se mostrou promissora no gerenciamento de outros tipos de câncer(79) como câncer gástrico (80), de pulmão (81), fígado (82) e de mama(83).

Em outro estudo publicado em 2021 (84) foi utilizado um derivado natural da curcumina (*Curcuma longa*), a Demetoxicurcumina (DMC), no tratamento de células GBM 8401. Os tratamentos foram analisados por um série de ensaios dentre eles, ensaio de cicatrização de feridas para determinar a migração celular, ensaios de câmara transwell para medir a invasão celular, ensaio de zimografia de gelatina para examinar a atividade gelatinolítica (MMP-2), e Western blotting, o qual mostrou que DMC reduziu os níveis dos componentes das vias p-EGFR(Tyr1068), PI3K, p-Akt/PKB $\alpha$ (Thr308), p-PDK1, NF- $\kappa$ B, dentre outros componentes de outras vias. Os resultados mostraram que a DMC inibiu a migração e invasão de células cancerosas através da inibição das vias de sinalização PI3K/Akt e NF- $\kappa$ B em células GBM 840. Essa capacidade do extrato DMC de ação anticancerígena pode estar relacionada a sua estrutura química mais estável, que diferentemente de seu análogo natural á curcumina, não possui o grupo metoxi ligado ao anel benzeno (85). Pesquisas já demonstram que os efeitos antitumorais do DMC são, em alguns casos, ainda maiores que os da própria curcumina (86).

Um dos alvos indiretos de controle da via da PI3K seria os agentes envolvidos na promoção ou resposta frente a ativação da via PI3K (87). Dentre esses agentes, temos a proteína AKT, que como apresentado anteriormente neste trabalho, é ativada por meio da fosforilação da PI3K e em decorrência irá promover a proliferação celular em células tumorais (38-43). Nesse intuito, o resveratrol, um agente pleiotrópico natural não tóxico, foi estudado em algumas pesquisas quanto aos efeitos anti-tumorigênicos contra o GBM. Em um primeiro estudo realizado em 2009 por Jiang e colaboradores foi sugerido a ação do resveratrol na regulação negativa das vias de sinalização PI3K/Akt/mTOR como um mediador na apoptose induzida em células de glioma (88). Tais resultados foram comprovados após 8 anos por Clark e colaboradores (89), onde o resveratrol não só inibiu potentemente o crescimento e a infiltração de GBM e GSC, atuando parcialmente na via de desativação de AKT e indução de p53, quanto suprimiu o crescimento de glioblastoma in vivo. Porém, segundo os autores, apesar da natureza não tóxica e os amplos efeitos anti-GBM do resveratrol, a sua biodisponibilidade é baixa quando administrado por via oral ou intravenosa, e sugerem o emprego de novos métodos de administração, como injeção direta para alcançar e manter doses terapêuticas no cérebro, técnica que já se mostrou promissora no tratamento de tumores cerebrais (90).

Além de protótipos de fármacos derivados de produtos naturais de origem vegetal, recentemente, os produtos naturais marinhos também têm ganhado perspectivas em exibir fortes efeitos inibitórios sobre as células cancerígenas (91), possibilitando um novo caminho para explorar novos medicamentos para o tratamento do GBM. Nesse contexto a Grincamicina (GCN) B-F, um produto natural marinho derivado da bactéria *Streptomyces Lusitanus*, foi testado pela primeira vez em culturas de células de glioblastoma (92). Os achados evidenciaram a ação da GCN B em suprimir eficazmente a proliferação e invasão de células GBM e sugere que GCN B também inibiu GSCs possivelmente através do direcionamento da via PI3K/AKT. Apesar de ter sido o primeiro estudo com o uso da GCN B em glioblastoma e ainda pouco se saber sobre o mecanismo de ação nessas células, um recente estudo publicado na *Nature* foi identificado a ação da grincamicina como um potente inibidor seletivo a IDH1 de tipo selvagem e mutante in vitro (93). Esse achado trás um importante impacto para a pesquisa científica no que diz respeito a alvos direcionados para o tratamento do GBM visto que essa enzima (IDH) possui variadas mutações somáticas em gliomas, é super expressa e desempenham papéis importantes na manutenção do GBM ao promover o crescimento do tumor regulando o metabolismo lipídico dependente de NADPH e diminuindo o nível de ROS (94).

No que diz respeito aos extratos ou derivados naturais com fins farmacológicos, e considerando que apenas 20% das plantas do mundo foram investigadas para esse fim (95) é

legítimo pensar que muitos mais compostos serão descobertos e, nesses compostos, muitas outras moléculas anticancerígenas com atividades bioativas em GBM poderão ser encontradas e pesquisadas. A esperança também pode vir de outras matrizes, como fungos, microorganismos e organismos marinhos que agora também são alvos de intensas pesquisas para moléculas anticancerígenas quimiopreventivas e quimioterapêuticas (96).

#### **4.2 FÁRMACOS SINTÉTICOS/SEMISSINTÉTICOS**

Estudos anteriores já evidenciaram que o GBM humano tem em sua origem um pequeno número de células-tronco cancerígenas específicas (CSCs), também conhecidas como células iniciadoras de câncer, que têm potencial para alta tumorigenicidade, autorrenovação e multi diferenciação(97). De acordo com o que se sabe sobre as CSC, a chave para erradicar completamente o GBM é eliminar as células-tronco do glioma (GSCs), o que impedirá a recorrência do glioma, a metástase e superará a quimio/radio-resistencia (98).

Em um estudo pré-clínico desenvolvido com células GSCs foi utilizado o etoposídeo (VP16), uma toxina fitóftora semi sintética que atua como um agente quimioterápico amplamente utilizado para o tratamento de vários tipos de câncer (99). Nesse estudo realizado por Wang e cols em 2018, foi proposto um nanocomposto de LDH carregado com VP16 (L-V) direcionado às células da linhagem U87 (GSCs). Os efeitos na proliferação e apoptose em GSCs mostraram que a presença de LDH no nanocarreador pode sensibilizar significativamente GSCs para VP16 e aumentar a morte dessas células desempenhando um papel vital na regulação negativa da expressão da via PI3K/Akt/mTOR e consequentemente ativando a via de sinalização Wnt/GSK3 $\beta$ / $\beta$ -catenina que leva à perda da resistência e aumenta o efeito de direcionamento nas GSCs(100). Estudos anteriores já revelaram a ação da VP16 no retardo da progressão do ciclo celular na fase G2/M e indução a apoptose por inibição da DNA topoisomerase II e da síntese de DNA (101). Vale salientar que o excelente desempenho de L-V em reverter a resistência a drogas de GSCs, fornece uma nova estratégia para aplicação clínica da nanomedicina na quimioterapia de glioma maligno, uma vez que a resistência e adaptação farmacológica do GBM é um dos problemas a se contornar no tratamento dessa doença (102).

A doramectina (DRM) é um fármaco semissintético (103) de uso veterinário de origem fúngica que tem uma ampla gama de atividades no tratamento contra endoparasitas e ectoparasitas e tem sido apontado por diversos pesquisadores como uma droga capaz de reverter a resistência farmacológica de células cancerígenas (104). Ainda esse ano, em 2022, em um trabalho divulgado por Chen e colaboradores (105), foi examinado o efeito do DRM na indução

de autofagia em linhagens celulares de glioma (GBM) U87 e C6. Os primeiros resultados obtidos em ensaios *in vitro*, demonstraram que o DRM pode induzir autofagia nas células, impedir a viabilidade e a formação de colônias, além de promover a apoptose das células. Em ensaios posteriores em modelo animal, comprovaram que a atividade autofágica induzida pelo o DRM era devido a modulação de vários genes e vias envolvidas na autofagia, principalmente bloqueando a via de sinalização PI3K/AKT/mTOR em células GBM indicando o DRM como um candidato a fármaco eficaz para o tratamento do GBM. Achados similares já foram observados em células de glioblastoma tratadas com o fármaco inibidor de tirosina quinase Ibrutinib (106).

Em termos de tratamentos clássicos com compostos sintéticos e semissintéticos, a evolução da tecnologia trará terapêuticas melhores e mais eficazes nos tratamentos de doenças como o câncer de cabeça, principalmente por essa classe de fármacos permitir a manipulação em laboratórios de forma aumentar a seletividade antitumoral do fármaco para a quimioterapia (107). A conscientização da comunidade científica sobre as limitações e áreas de melhoria na terapia do câncer certamente superará as limitações de hoje em um futuro próximo (108).

## 5 ENSAIOS EXPERIMENTAIS CLÍNICOS

Os ensaios clínicos são um conjunto de procedimentos e etapas conduzidas em seres humanos que visam a investigação científica no desenvolvimento de medicamentos com o objetivo de confirmar os efeitos clínicos, farmacológicos e identificar qualquer efeito adverso, bem como estudar como o medicamento em experimentação é absorvido, distribuído, metabolizado e excretado e com isso verificar sua segurança e eficácia na terapia de doenças que acometem os seres humanos (109).

A fase experimental clínica, se configura como a segunda etapa no desenvolvimento de um novo medicamento, ela é dividida em 4 fases (I a IV) que variam quanto ao tempo de duração do ensaio, número de participantes e objetivos a serem alcançados (110). Apresentaremos alguns estudos como protótipos de fármacos promissores contra Glioblastoma via PI3K que já se encontram na fase I e II de pesquisa (Tabela 3). A expectativa é que os fármacos em estudo passem as fases seguintes na cadeia de desenvolvimento de um novo fármaco e que novas formas de tratamento possam ser alcançadas contra o glioblastoma humano.

### **Tabela 3 – Estudos clínicos de substâncias via inibição PI3Ks (2017-2022)**

<b>Substâncias</b>	<b>Fase</b>	<b>Situação</b>	<b>Ano</b>	<b>Nº Identificador</b>
<b>BKM120 (Buparlisib) + TMZ</b>	I e II	Concluído	2018	NCT01349660
<b>Paxalisib (GDC-0084) + TMZ</b>	II	Ativo, não recrutando.	2022	NCT03522298
<b>Paxalisib + Imipridona</b>	II	Recrutamento	2021	NCT05009992
<b>Paxalisibe - Multiterapias</b>	II e III	Recrutamento	2019	NCT03970447
<b>Ipatasertib + Atezolizumab</b>	I e II	Recrutamento	2018	NCT03673787
<b>Temsirolimus + Perifosina</b>	I e II	Concluído	2020	NCT01051557
<b>Perifosine + TMZ</b>	II	Concluído	2019	NCT00590954
<b>Temsirolimus + Perifosina</b>	I	Ativo, não recrutando	2017	NCT02238496
<b>Everolimus (RAD001) + TMZ</b>	I e II	Concluído	2022	NCT01062399
<b>Vistusertib (AZD2014) + TMZ</b>	I	Concluído	2019	NCT02619864

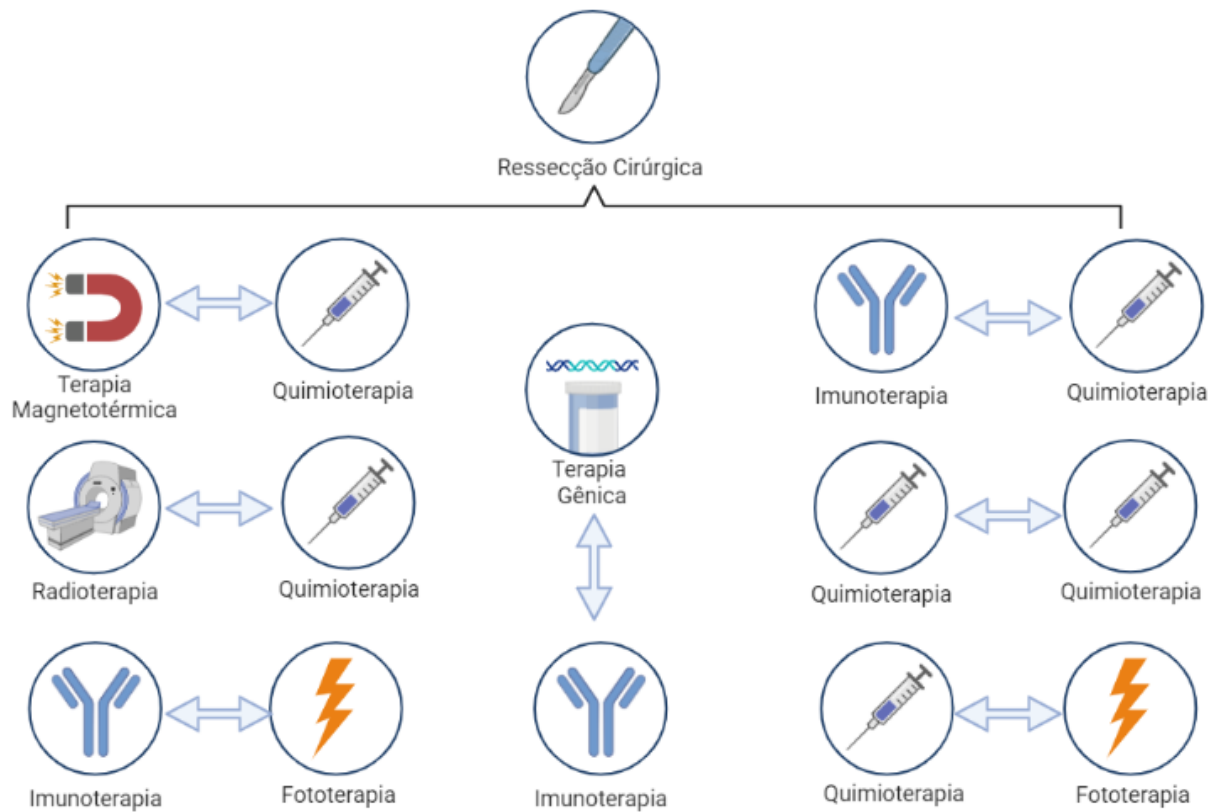
Fonte: Autor (2022)

## 5.1 ENSAIOS CLÍNICOS DE FASE I e II

A terapia combinada (Figura 5) é uma prática clínica que consiste na aplicação de duas ou mais abordagens e intervenções terapêuticas de forma simultânea, no tratamento ao paciente potencializando as chances de sobrevivência do mesmo (111). Por exemplo, no tratamento contra o GBM várias implicações do uso da terapia combinada já foram demonstradas em estudos clínicos (112) como em alcançar eficácia com doses mais baixas ou diminuir a toxicidade, na sensibilização química das células, tornando um composto adicional mais potente e também em efeitos aditivos ou sinérgicos, minimizando mecanismos de resistência ao fármaco padrão (113).

**Figura 5 – Estratégias terapêuticas combinadas, contra o GBM.**





Fonte: Autor (2022) adaptado de Yang et al, 2020 (114).

O BKM120 (Buparlisib) é um fármaco oral potente e altamente inibidor de PI3K pan-classe I que tem sido evidenciado em estudos pré-clínicos como um medicamento indicado para o tratamento de terapia combinada por aumentar a atividade da radioterapia e os efeitos da TMZ em GBM (115), além de ter sido demonstrado efeitos antiproliferativos e pró-apoptóticos em linhagens celulares de glioblastoma independentes do status de PTEN ou EGFR (116), e uma boa biodisponibilidade por penetrar a barreira hematoencefálica (117). Com o intuito de determinar a ação e dose máxima tolerável do BKM120 no tratamento do GBM, em um primeiro estudo clínico de Fase 1/2 desenvolvido por Hainsworth e colaboradores, foi avaliado a ação da terapia combinada de BKM120 + bevacizumabe em pacientes com GBM recidivante (118). Já em um segundo estudo de Fase 1 dirigida em 2 estágios desenvolvido por Wen e colaboradores, foi direcionado a terapia combinada de BKM120+TMZ antes e após o tratamento com radioterapia e quimioterapia adjuvante, em pacientes recém diagnosticados com GBM (119). Porém, em ambos os ensaios, os resultados de eficácia foram consistentes em mostrar um baixo nível de eficácia para BKM120 e não foi possível determinar o efeito antitumoral devido a efeitos adversos no tratamento dos pacientes, principalmente relacionados

a toxicidades limitantes de dose observadas e descontinuações do tratamento pelos participantes do estudo.

O paxalisib (GDC-0084) é um inibidor duplo de PI3K/mTOR capaz de penetrar efetivamente na barreira hematoencefálica e apresentar estabilidade metabólica no cérebro, que tem sido caracterizado em estudos pré-clínicos, por uma abordagem promissora para o tratamento de pacientes com PIK3CA mutante em GBM (120). Principalmente por alcançar inibição significativa do crescimento tumoral das células cancerígenas(121). Um estudo intervencionista de fase 2 avaliando a segurança, farmacocinética e eficácia de paxalisib (GDC-0084) em GBM recém-diagnosticado, está atualmente em desenvolvimento (*ClinicalTrials.gov: NCT03522298*). O estudo foi dividido em 2 partes, onde resultados preliminares da parte I realizado e concluído com 9 pacientes recrutados, determinou um MTD de 60mg. Em relação à toxicidade, os eventos adversos relatados relacionados com maior frequência ao tratamento foram hiperglicemia, mucosite oral, erupção cutânea de baixo grau e fadiga, sintomas de fácil reversão e esperados em inibidores de PI3K (122). Em adição aos resultados apresentados, o Paxalisib da fabricante Kazia Therapeutics Limited, apresentou um sinal positivo de sobrevivência global (OS) no estudo em pacientes com GBM após 15 meses de acompanhamento. Esse fato se constitui em incentivos para novos estudos clínicos afim de otimizar a sua eficácia no tratamento clínico do GBM, nesse intuito, um estudo (*ClinicalTrials.gov: NCT05009992*).que visa o uso da terapia combinada do paxalisib e a imipridona ONC201, um antagonista do receptor de dopamina D2 (DRD2) e subunidade proteolítica da protease caseinólítica (ClpP) (123), e outro que avalia vários regimes de tratamento em GBM recém-diagnosticado e recorrente para identificar e combinar terapias eficazes inclusive com o uso do paxalisib (*ClinicalTrials.gov: NCT03970447*), já se encontram em fase de recrutamento.

A imunoterapia se configura como uma das alternativas terapêutica no tratamento anti-GBM, tanto de forma individualizada quanto em combinações adjuvantes com outros tratamentos (124). Investigar o sinergismo entre anticorpos monoclonais e drogas inibidoras da via PI3K é de fundamental importância para avanços no desenvolvimento de novas estratégias clínicas para o manejo dos pacientes com GBM, como pretende o estudo clínico de fase 1 não randomizado que está atualmente na fase de recrutamento, com o uso de Ipatasertib em combinação com Atezolizumab com finalidade de caracterizar a segurança e tolerabilidade e a atividade farmacodinâmica da combinação (*ClinicalTrials.gov: NCT03673787*). O desenho do estudo foi dividido em duas partes. de escalonamento da dose e a fase de expansão da dose (A e B respectivamente) que determinara a dose máxima tolerada (MTD) e a dose recomendada a

ser utilizada na fase II (RP2D) do estudo posteriormente. Os pesquisadores investigarão a combinação de uma dose fixa de atezolizumabe (1200mg) em combinação com doses crescentes de ipatasertibe em pacientes com tumores sólidos avançados (Coorte A1) e pacientes com GBM ressecável (Coorte A2). A estimativa é que sejam recrutados 87 participantes no período de vigência do estudo que tem como previsão de finalizar em novembro de 2023.

Vale ressaltar que o Ipatasertibe, está presente na classe de inibidores de quinase de pequenas moléculas (SMI) como um novo inibidor da via PI3K/AKT competitivo de ATP cujos efeitos nas células de glioblastoma foram pouco estudados até agora (125), no entanto se mostrou promissor no tratamento de outros tipos de câncer como de próstata (126) e de mama (127).

Em 2020, em um estudo publicado por Kaley e colaboradores (128), foi avaliado a ação de duas drogas inibidores de sinalização através do eixo PI3K/AKT/mTOR, o temsirolimus e perifosine, em GBM recorrente. O temsirolimus tem como principal alvo de ação a inibição da mTOR (129), enquanto o perifosine, um alquilfosfolipídio oral que representa uma nova classe de agentes antineoplásicos com mecanismos e toxicidades distintos de outras drogas(130), inibe a sinalização de AKT. Em decorrência desse mecanismo de ação, a atuação dessas drogas pode desligar a sinalização através da via PI3K. Porém, segundo os pesquisadores o papel individualizado de ambos as drogas apesar de bem tolerados possuem uma atividade limitada. Portanto, o estudo propôs um ensaio clínico de fase I para determinar os efeitos sinérgicos da terapia combinada de temsirolimus+ perifosine em pacientes com GBM recorrente e outros gliomas malignos (MGs), afim de melhorar a eficácia das drogas investigadas (*ClinicalTrials.gov: NCT01051557*). Estudos pré-clínicos realizados em modelo animal, já evidenciam efeitos positivos dessa sinergia(131). Ao todo, 35 pacientes foram submetidos a terapia combinada nos quais 17 (GBM) e outros 18 (MGs), os resultados obtidos apresentaram toxicidades limitantes graves nos níveis de dose mais altos, sendo os principais efeitos adversos trombocitopenia, hemorragia intracerebral e infecção pulmonar, no entanto foi possível determinar o MTD da combinação de temsirolimus administrado em 115 mg por semana e o inibidor de AKT perifosina administrado em 100 mg por dia (após carga de 600 mg) tolerável em indivíduos adultos (128).

Em adição aos resultados obtidos nesse trabalho, o mesmo grupo de pesquisadores desenvolveu e concluiu paralelamente um ensaio clínico (132) com o objetivo de testar a eficácia individual da perifosina na prevenção do crescimento do tumor usando a dose ideal estabelecida e determinar a capacidade da droga em bloquear as moléculas do tumor que o levam a se dividir e crescer (*ClinicalTrials.gov: NCT00590954*). A necessidade desse novo

ensaio concomitante se fez em vista da carência de dados acerca da toxicidade ou eficácia da perifosina em testes humanos, o que permitiu determinar o MTD na terapia combinada com maior segurança. Atualmente, está em desenvolvendo pelos pesquisadores, um estudo piloto adicional combinando temsirolimus a 140 mg semanalmente com perifosina afim de avaliar níveis intermediários eficazes do tratamento e mais toleráveis do que os observados no estudo divulgado em 2020 (128), no entanto apesar de ativo, a pesquisa ainda não entrou na fase de recrutamento e não possui resultados preliminares(*ClinicalTrials.gov: NCT02238496*).

O Everolimus (RAD001) e o Vistusertib (AZD2014), são dois inibidores da via PI3K que compartilham característica semelhante onde ambos são inibidores orais da via PI3k/mTOR e demonstraram atividade antitumoral promissora no tratamento do GBM (133). Em pesquisa clínica realizada por Chinnaiyan e colaboradores (*ClinicalTrials.gov: NCT01062399*) a combinação de everolimus com quimiorradiação convencional em um estudo de fase II projetado para determinar a eficácia do inibidor de alvo de rapamicina em mamíferos (mTOR), levou a um aumento das toxicidades relacionadas ao tratamento em pacientes com glioblastoma recém-diagnosticado e não proporcionou melhores resultados clínicos (134). Segundo os autores, alguns fatores podem ter influenciado para baixa eficácia no tratamento como a capacidade limitada desses agentes de atravessar a barreira hematoencefálica, além de alterações moleculares e radiográficas intrínsecas ao tumor. observadas após a administração de inibidores de mTOR ou por meio de ativação compensatória de Akt como resultado retroalimentação negativa do substrato 1 do receptor de insulina/quinase S6 impulsionada pela sinalização C2 do complexo mTOR não regulado. Estudos anteriores já apontaram esse fato como forma de resistência e evasão terapêutica de células cancerígenas (135), o que se sugere uma terapia combinada de dupla inibição da mTOR1 e mTOR2 afim de contornar esse mecanismo de retroalimentação. Evidências consideráveis já indicam o potencial dessa combinação em superar as limitações encontradas com a monoterapia via PI3K/mTOR (136)

O Vistusertib surge como uma alternativa a elucidar as dificuldades encontradas na terapia com o everolimus, por esse ser um inibidor duplo natural da mTORC1/2. Um estudo clínico intervencional envolvendo 15 pacientes com GBM na primeira progressão que estão recebendo reexposição de TMZ, foi concluído em 2020 e apresentou resultados significativos para a monoterapia com inibidor duplo mTOR (*ClinicalTrials.gov: NCT02619864*). Anteriormente, um outro estudo de fase I já havia sido realizado em 135 pacientes com tumores sólidos avançados que demonstrou um perfil de segurança aceitável, consistente com o relatado entre pacientes recebendo outros inibidores de mTOR (*ClinicalTrials.gov: NCT01026402*). Em relação ao primeiro estudo mencionado, no artigo publicado pelo grupo, foi relatado uma

estabilidade prolongada da doença quando realizado o tratamento de vistusertib combinado com TMZ em 38% dos pacientes com duração mediana de 9,2 meses, indicando atividade sinérgica do inibidor duplo de mTOR com TMZ (137), porém em decorrência ao número limitado amostral de pacientes participantes do estudo que impossibilitou traçar o perfil das análises farmacodinâmicas pré-operatórias e análises farmacocinéticas, não foi possível determinar se esse regime atingiu concentrações intratumorais adequadas suficientes para inibir os alvos da PI3K pretendidos da via /AKT/mTOR. Esse foi o primeiro estudo clínico publicado de vistusertib em combinação com TMZ em pacientes com GBM na primeira recorrência e que demonstrou um perfil de segurança favorável.

Desde que o GBM é uma doença complexa com mecanismos intrincados em seus processos de crescimento, progressão, invasão, e evidências indicam que uma única estratégia terapêutica tende a resultar em resistência aos medicamentos e tolerância às células tumorais (138) que levam à recorrência tumoral e metástase (114). Se faz necessário o incentivo de novos ensaios clínicos na busca de estratégias terapêuticas combinadas, com alvo em vários mecanismos de agentes que sejam capazes de superar esses problemas, e dessa forma, possibilitarmos uma maior esperança de sobrevida e até mesmo cura, dos pacientes acometidos por essa doença que se apresenta atualmente tão implacável e mortal.

## **6 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Embora numerosos inibidores direcionados a via PI3K tenham sido desenvolvidos nos últimos anos, não houve nenhum novo tratamento medicamentoso aprovado para o manejo clínico de pacientes diagnosticados com glioblastoma nos últimos 5 anos. Apesar de anos de pesquisas, pouco progresso foi feito para melhorar os resultados para pacientes com GBM. Se faz necessário a prospecção de novas moléculas e substâncias em estudos pré-clínicos e clínicos que visam a via a PI3K como alvo, afim de maximizar esses resultados, principalmente por sabermos o papel crucial de atuação dessa via no desenvolvimento e progressão do GBM (139).

## REFERÊNCIAS

1. Park MY, Kim Y, Ha SE, Kim HH, Bhosale PB, Abusaliya A, et al. Function and Application of Flavonoids in the Breast Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022 Jul 13;23(14):7732.
2. Kontomanolis EN, Koutras A, Syllaios A, Schizas D, Mastoraki A, Garmpis N, et al. Role of Oncogenes and Tumor-suppressor Genes in Carcinogenesis: A Review. *Anticancer Research [Internet]*. 2020 Nov 1;40(11):6009–15.
3. Anderson NM, Simon MC. The tumor microenvironment. *Current Biology*. 2020 Aug;30(16):R921–5.
4. Merabishvili V. Review Cancer incidence in Five Continents Vol. XI / Ed. by F. Bray, M. Colombet, L. Mery, M. Piñeros, A. Znaor, R. Zanetti and J. Ferlay. IARC Sci. publ. № 166, Lyon, France, 1545 p. *Problems in oncology*. 2021 Dec 30;67(6):855.
5. Salimi A, Zali A, Seddighi AS, Seddighi A, Meshkat S, Hosseini M, et al. Descriptive Epidemiology of Brain and Central Nervous System Tumours: Results from Iran National Cancer Registry, 2010-2014. *Journal of Cancer Epidemiology*. 2020 Sep 18;2020:1–10.
6. Stewart BW, World Health Organization, For A, De M, Cancer L. *World cancer report*. Lyon: Iarc Press; 2014.
7. Brain, central nervous system [Internet]. Available from: <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/31-Brain-central-nervous-system-fact-sheet.pdf>.
8. Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK, Burger PC, Jouvet A, et al. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. *Acta Neuropathologica*. 2007 Sep 28;114(5):547–7.
9. Thakkar JP, Dolecek TA, Horbinski C, Ostrom QT, Lightner DD, Barnholtz-Sloan JS, et al. Epidemiologic and Molecular Prognostic Review of Glioblastoma. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*. 2014 Jul 22;23(10):1985–96.
10. Tan AC, Ashley DM, López GY, Malinzak M, Friedman HS, Khasraw M. Management of glioblastoma: State of the art and future directions. *CA: A Cancer Journal for Clinicians [Internet]*. 2020 Jun;70(4):299–312.
11. Alexander BM, Cloughesy TF. Adult Glioblastoma. *Journal of Clinical Oncology*. 2017 Jul 20;35(21):2402–9.
12. DeCordova S, Shastri A, Tsolaki AG, Yasmin H, Klein L, Singh SK, et al. Molecular Heterogeneity and Immunosuppressive Microenvironment in Glioblastoma. *Frontiers in Immunology*. 2020 Jul 17;11.
13. Ostrom QT, Gittleman H, Liao P, Vecchione-Koval T, Wolinsky Y, Kruchko C, et al. *CBTRUS Statistical Report: Primary brain and other central nervous system tumors*

- diagnosed in the United States in 2010–2014. *Neuro-Oncology*. 2017 Oct;19(suppl\_5):v1–88.
14. Żukiel R, Piestrzeniewicz R, Nowak S, Jankowski R, Wieloch M. Historia leczenia operacyjnego guzów mózgu. *Neuroskop*. 2004;6:9–19
  15. Louis DN, Perry A, Reifenberger G, von Deimling A, Figarella-Branger D, Cavenee WK, et al. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Acta Neuropathologica*. 2016 May 9;131(6):803–20.
  16. Wen PY, Packer RJ. The 2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System: clinical implications. *Neuro-Oncology*. 2021 Jun 29;
  17. Zhou Y-S, Wang W, Chen N, Wang L-C, Huang J-B. Research progress of anti-glioma chemotherapeutic drugs (Review). *Oncology Reports*. 2022 Mar 30;47(5).
  18. Louis DN, Perry A, Wesseling P, Brat DJ, Cree IA, Figarella-Branger D, et al. The 2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Neuro-Oncology*. 2021 Jun 29;23(8).
  19. Cruz JVR, Batista C, Afonso B de H, Alexandre-Moreira MS, Dubois LG, Pontes B, et al. Obstacles to Glioblastoma Treatment Two Decades after Temozolomide. *Cancers*. 2022 Jun 30;14(13):3203.
  20. Olar A, Wani KM, Alfaro-Munoz KD, Heathcock LE, van Thuijl HF, Gilbert MR, et al. IDH mutation status and role of WHO grade and mitotic index in overall survival in grade II-III diffuse gliomas. *Acta Neuropathologica* [Internet]. 2015 Apr 1 [cited 2022 Jan 30];129(4):585–96.
  21. Ohgaki H, Kleihues P. The Definition of Primary and Secondary Glioblastoma. *Clinical Cancer Research*. 2012 Dec 3;19(4):764–72.
  22. Cancer biology: Molecular and genetic basis - Oncology for Medical Students [Internet]. [wiki.cancer.org.au](https://wiki.cancer.org.au). [cited 2022 Aug 24]. Available from: [https://wiki.cancer.org.au/oncologyformedicalstudents/Cancer\\_biology:\\_Molecular\\_and\\_genetic\\_basis#Cellular\\_basis\\_of\\_carcinogenesis](https://wiki.cancer.org.au/oncologyformedicalstudents/Cancer_biology:_Molecular_and_genetic_basis#Cellular_basis_of_carcinogenesis).
  23. Nayak A., Ralte A.M., Sharma M.C., Singh V.P., Mahapatra A.K., Mehta V.S., Sarkar C. p53 protein alterations in adult astrocytic tumors and oligodendrogliomas. *Neurol. India*. 2004;52:228–232.
  24. Hanif F, Muzaffar K, Perveen K, Malhi SM, Simjee ShU. Glioblastoma Multiforme: A Review of its Epidemiology and Pathogenesis through Clinical Presentation and Treatment. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2017 Jan 1;18(1):3-9.
  25. Birbilis TA, Matis GK, Eleftheriadis SG, Theodoropoulou EN, Sivridis E. Spinal Metastasis of Glioblastoma Multiforme. *Spine*. 2010 Apr;35(7):E264–9.
  26. Lun M, Lok E, Gautam S, Wu E, Wong ET. The natural history of extracranial metastasis from glioblastoma multiforme. *Journal of Neuro-Oncology* [Internet]. 2011 Nov 1 [cited 2022 Jan 27];105(2):261–73.



27. Urbańska K, Sokołowska J, Szmidt M, Sysa P. Review Glioblastoma multiforme – an overview. *Współczesna Onkologia* [Internet]. 2014 [cited 2019 Mar 17];5:307–12.
28. Lohmann P, Werner J-M, Shah N, Fink G, Langen K-J, Galldiks N. Combined Amino Acid Positron Emission Tomography and Advanced Magnetic Resonance Imaging in Glioma Patients. *Cancers*. 2019 Jan 29;11(2):153.
29. Liu S, Shi W, Zhao Q, Zheng Z, Liu Z, Meng L, et al. Progress and prospect in tumor treating fields treatment of glioblastoma. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2021 Sep;141:111810.
30. Katsetos CD, Dráberová E, Legido A, Dumontet C, Dráber P. Tubulin targets in the pathobiology and therapy of glioblastoma multiforme. I. class III  $\beta$ -tubulin. *Journal of Cellular Physiology*. 2009 Jul 31;221(3):505–13.
31. Mehta S, Lo Cascio C. Developmentally regulated signaling pathways in glioma invasion. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2017 Aug 18;75(3):385–402.
32. Haumann R, Videira JC, Kaspers GJL, van Vuurden DG, Hulleman E. Overview of Current Drug Delivery Methods Across the Blood–Brain Barrier for the Treatment of Primary Brain Tumors. *CNS Drugs*. 2020 Sep 23;
33. Spangle JM, Roberts TM, Zhao JJ. The emerging role of PI3K/AKT-mediated epigenetic regulation in cancer. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer*. 2017 Aug;1868(1):123–31.
34. D.R. Kaplan, M. Whitman, B. Schaffhausen, D.C. Pallas, M. White, L. Cantley, et al. Common elements in growth factor stimulation and oncogenic transformation: 85 kd phosphoprotein and phosphatidylinositol kinase activity *Cell.*, 50 (7) (1987), pp. 1021-1029.
35. Martini M, De Santis MC, Braccini L, Gulluni F, Hirsch E. PI3K/AKT signaling pathway and cancer: an updated review. *Ann Med*. 2014;46:372–83.
36. S.S. El Sheikh, J. Domin, P. Tomtitchong, P. Abel, G. Stamp, E.-N. Lalani Topographical expression of class IA and class II phosphoinositide 3-kinase enzymes in normal human tissues is consistent with a role in differentiation *BMC Clin. Pathol.*, 3 (1) (2003), p. 4.
37. Vivanco, C.L. Sawyers The phosphatidylinositol 3-kinase–AKT pathway in human cancer *Nat. Rev. Cancer*, 2 (7) (2002), p. 489.
38. Alzahrani AS. PI3K/Akt/mTOR inhibitors in cancer: At the bench and bedside. *Seminars in Cancer Biology*. 2019 Dec;59:125–32.
39. Hay N. Upstream and downstream of mTOR. *Genes & Development*. 2004 Aug 15;18(16):1926–45.
40. Murugan AK. mTOR: Role in cancer, metastasis and drug resistance. *Seminars in Cancer Biology*. 2019 Dec;59:92–111.

41. Liu P, Cheng H, Roberts TM, Zhao JJ. Targeting the phosphoinositide 3-kinase pathway in cancer. *Nature Reviews Drug Discovery* [Internet]. 2009 Aug;8(8):627–44.
42. Noorolyai S, Shajari N, Baghbani E, Sadreddini S, Baradaran B. The relation between PI3K/AKT signalling pathway and cancer. *Gene*. 2019 May;698:120–8.
43. Squarize CH, Castilho RM, Abrahao AC, Molinolo A, Lingen MW, Gutkind JS. PTEN Deficiency Contributes to the Development and Progression of Head and Neck Cancer. *Neoplasia*. 2013 May;15(5):461–71.
44. Kurig B, Shymanets A, Bohnacker T, Prajwal, Brock C, Ahmadian MR, et al. Ras is an indispensable coregulator of the class I B phosphoinositide 3-kinase p87/p110 $\gamma$ . *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2009 Dec;106(48):20312–7.
45. Mishra R, Patel H, Alanazi S, Kilroy MK, Garrett JT. PI3K Inhibitors in Cancer: Clinical Implications and Adverse Effects. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021 Mar 27;22(7):3464.
46. Yoshioka K. Class II phosphatidylinositol 3-kinase isoforms in vesicular trafficking. *Biochemical Society Transactions*. 2021 Mar 5;
47. Merrill NM, Schipper JL, Karnes JB, Kauffman AL, Martin KR, MacKeigan JP. PI3K-C2 $\alpha$  knockdown decreases autophagy and maturation of endocytic vesicles. Donaldson JG, editor. *PLOS ONE*. 2017 Sep 14;12(9):e0184909.
48. Gulluni F, De Santis MC, Margaria JP, Martini M, Hirsch E. Class II PI3K Functions in Cell Biology and Disease. *Trends in Cell Biology*. 2019 Apr;29(4):339–59.
49. Downregulation of class II phosphoinositide 3-kinase PI3K-C2 $\beta$  delays cell division and potentiates the effect of docetaxel on cancer cell growth.
50. Brown WJ, DeWald DB, Emr SD, Plutner H, Balch WE. Role for phosphatidylinositol 3-kinase in the sorting and transport of newly synthesized lysosomal enzymes in mammalian cells. *Journal of Cell Biology*. 1995 Aug 15;130(4):781–96.
51. Ellis H, Ma CX. PI3K Inhibitors in Breast Cancer Therapy. *Current Oncology Reports*. 2019 Dec;21(12).
52. Fattahi S, Amjadi-Moheb F, Tabaripour R, Ashrafi GH, Akhavan-Niaki H. PI3K/AKT/mTOR signaling in gastric cancer: Epigenetics and beyond. *Life Sciences*. 2020 Dec;262:118513.
53. Murugan AK. Special issue: PI3K/Akt signaling in human cancer. *Seminars in Cancer Biology*. 2019 Dec;59:1–2.
54. Colardo M, Segatto M, Di Bartolomeo S. Targeting RTK-PI3K-mTOR Axis in Gliomas: An Update. *International Journal of Molecular Sciences* [Internet]. 2021 May 5 [cited 2022 May 19];22(9):4899.
55. Bleeker FE, Lamba S, Zanon C, Molenaar RJ, Hulsebos TJ, Troost D, et al. Mutational profiling of kinases in glioblastoma. *BMC Cancer*. 2014 Sep 26;14(1).

56. Langhans J, Schneele L, Trenkler N, von Bandemer H, Nonnenmacher L, Karpel-Massler G, et al. The effects of PI3K-mediated signalling on glioblastoma cell behaviour. *Oncogenesis* [Internet]. 2017 Nov 29 [cited 2021 May 15];6(11):1–9.
57. Zhang Y, Dube C, Gibert M, Cruickshanks N, Wang B, Coughlan M, et al. The p53 Pathway in Glioblastoma. *Cancers* [Internet]. 2018 Sep 1;10(9):297.
58. Cantley LC. The Phosphoinositide 3-Kinase Pathway. *Science*. 2002 May 31;296(5573):1655–7.
59. Westhoff M-A, Karpel-Massler G, Brühl O, Enzenmüller S, La Ferla-Brühl K, Siegelin MD, et al. A critical evaluation of PI3K inhibition in Glioblastoma and Neuroblastoma therapy. *Molecular and Cellular Therapies*. 2014;2(1):32.
60. Shahcheraghi SH, Tchokonte-Nana V, Lotfi M, Lotfi M, Ghorbani A, Sadeghnia HR. Wnt/beta-catenin and PI3K/Akt/mTOR Signaling Pathways in Glioblastoma: Two Main Targets for Drug Design: A Review. *Current Pharmaceutical Design*. 2020 May 18;26(15):1729–41.
61. Petővári G, Hujber Z, Krencz I, Dankó T, Nagy N, Tóth F, et al. Targeting cellular metabolism using rapamycin and/or doxycycline enhances anti-tumour effects in human glioma cells. *Cancer Cell International*. 2018 Dec;18(1).
62. Chen ZX, Wallis K, Fell SM, Sobrado VR, Hemmer MC, Ramskold D, et al. RNA Helicase A Is a Downstream Mediator of KIF1B Tumor-Suppressor Function in Neuroblastoma. *Cancer Discovery*. 2014 Jan 27;4(4):434–51.
63. Ströbele S, Schneider M, Schneele L, Siegelin MD, Nonnenmacher L, Zhou S, et al. A Potential Role for the Inhibition of PI3K Signaling in Glioblastoma Therapy. Castresana JS, editor. *PLOS ONE*. 2015 Jun 29;10(6):e0131670.
64. Jörg Felsberg, Hentschel B, Kaulich K, Dorothee Gramatzki, Zacher A, Bastian Malzkorn, et al. Epidermal Growth Factor Receptor Variant III (EGFRvIII) Positivity in EGFR-Amplified Glioblastomas: Prognostic Role and Comparison between Primary and Recurrent Tumors. *Clinical Cancer Research* [Internet]. 2017 Nov 15 [cited 2020 Jan 6];23(22):6846–55.
65. Xie S, Ni J, McFaline-Figueroa JR, Wang Y, Bronson RT, Ligon KL, et al. Divergent Roles of PI3K Isoforms in PTEN-Deficient Glioblastomas. *Cell Reports*. 2020 Sep;32(13):108196.
66. Wang H, Xu T, Jiang Y, Xu H, Yan Y, Fu D, et al. The Challenges and the Promise of Molecular Targeted Therapy in Malignant Gliomas. *Neoplasia (New York, NY)* [Internet]. 2015 Mar 23 [cited 2020 Aug 27];17(3):239–55
67. Le Rhun E, Preusser M, Roth P, Reardon DA, van den Bent M, Wen P, et al. Molecular targeted therapy of glioblastoma. *Cancer Treatment Reviews*. 2019 Nov;80:101896.
68. Ou A, Yung WKA, Majd N. Molecular Mechanisms of Treatment Resistance in Glioblastoma. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020 Dec 31;22(1):351

69. Li X, Wu C, Chen N, Gu H, Yen A, Cao L, et al. PI3K/Akt/mTOR signaling pathway and targeted therapy for glioblastoma. *Oncotarget* [Internet]. 2016 Mar 7;7(22).
70. Yang J, Nie J, Ma X, Wei Y, Peng Y, Wei X. Targeting PI3K in cancer: mechanisms and advances in clinical trials. *Molecular Cancer* [Internet]. 2019 Feb 19;18(1).
71. Sami A, Karsy M. Targeting the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway in glioblastoma: novel therapeutic agents and advances in understanding. *Tumor Biology*. 2013 Apr 30;34(4):1991–2002.
72. Shergalis A, Bankhead A, Luesakul U, Muangsin N, Neamati N. Current Challenges and Opportunities in Treating Glioblastoma. Barker EL, editor. *Pharmacological Reviews*. 2018 Apr 18;70(3):412–45.
73. Hughes J, Rees S, Kalindjian S, Philpott K. Principles of Early Drug Discovery. *British Journal of Pharmacology* [Internet]. 2011 Feb 22;162(6):1239–49.
74. Ediriweera MK, Tennekoon KH, Samarakoon SR. In vitro assays and techniques utilized in anticancer drug discovery. *Journal of Applied Toxicology*. 2018 Aug 2;39(1):38–71.
75. Kotecki N, Kindt N, Krayem M, Awada A. New horizons in early drugs development in solid cancers. *Current Opinion in Oncology*. 2021 Jul 23;33(5):513–9.
76. Atanasov AG, Waltenberger B, Pferschy-Wenzig E-M, Linder T, Wawrosch C, Uhrin P, et al. Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: A review. *Biotechnology Advances*. 2015 Dec;33(8):1582–614.
77. Yao W, Gong H, Mei H, Shi L, Yu J, Hu Y. Taxifolin Targets PI3K and mTOR and Inhibits Glioblastoma Multiforme. Zhao D, editor. *Journal of Oncology*. 2021 Aug 20;2021:1–12.
78. Thuan NH, Shrestha A, Trung NT, Tatipamula VB, Van Cuong D, Canh NX, et al. Advances in biochemistry and the biotechnological production of taxifolin and its derivatives. *Biotechnology and Applied Biochemistry*. 2021 Apr 14;69(2):848–61.
79. Das A, Baidya R, Chakraborty T, Samanta AK, Roy S. Pharmacological basis and new insights of taxifolin: A comprehensive review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2021 Oct;142:112004.
80. Xie J, Pang Y, Wu X. Taxifolin suppresses the malignant progression of gastric cancer by regulating the AhR/CYP1A1 signaling pathway. *International Journal of Molecular Medicine*. 2021 Sep 6;48(5).
81. Wang R, Zhu X, Wang Q, Li X, Wang E, Zhao Q, et al. The anti-tumor effect of taxifolin on lung cancer via suppressing stemness and epithelial-mesenchymal transition in vitro and oncogenesis in nude mice. *Annals of Translational Medicine* [Internet]. 2020 May 1 [cited 2021 Mar 21];8(9):590–0.
82. Butt SS, Khan K, Badshah Y, Rafiq M, Shabbir M. Evaluation of pro-apoptotic potential of taxifolin against liver cancer. *PeerJ*. 2021 May 25;9:e11276.

83. Li J, Hu L, Zhou T, Gong X, Jiang R, Li H, et al. Taxifolin inhibits breast cancer cells proliferation, migration and invasion by promoting mesenchymal to epithelial transition via  $\beta$ -catenin signaling. *Life Sciences*. 2019 Sep;232:116617.
84. Su R-Y, Hsueh S-C, Chen C-Y, Hsu M-J, Lu H-F, Peng S-F, et al. Demethoxycurcumin Suppresses Proliferation, Migration, and Invasion of Human Brain Glioblastoma Multiforme GBM 8401 Cells via PI3K/Akt Pathway. *Anticancer Research*. 2021 Apr;41(4):1859–70
85. Han, G., Bi, R., Le, Q., Zhao, L., Dong, Y., & Lin, Q. (2008). [Study on effect of demethoxycurcumin in curcuma long on stability of curcumin]. *Zhong Yao Cai=Zhongyaocai=Journal of Chinese Medicinal Materials*, 31(4), 592–594.
86. Hatamipour, M., Ramezani, M., Tabassi, S. A. S., Johnston, T. P., Ramezani, M., & Sahebkar, A. (2018). Demethoxycurcumin: A naturally occurring curcumin analogue with antitumor properties. *J Cell Physiol*, 233(12), 9247–9260.
87. Hoxhaj G, Manning BD. The PI3K–AKT network at the interface of oncogenic signalling and cancer metabolism. *Nature Reviews Cancer*. 2019 Nov 4;20(2):74–88.
88. Jiang H, Shang X, Wu H, Gautam SC, Al-Holou S, Li C, Kuo J, Zhang L, Chopp M. Resveratrol downregulates PI3K/Akt/mTOR signaling pathways in human U251 glioma cells. *J Exp Ther Oncol*. 2009;8(1):25-33.
89. Clark PA, Bhattacharya S, Elmayer A, Darjatmoko SR, Thuro BA, Yan MB, van Ginkel PR, Polans AS, Kuo JS. Resveratrol targeting of AKT and p53 in glioblastoma and glioblastoma stem-like cells to suppress growth and infiltration. *J Neurosurg*. 2017 May;126(5):1448-1460.
90. Debinski W, Tatter SB. Convection-enhanced delivery for the treatment of brain tumors. Expert review of neurotherapeutics [Internet]. 2009 Oct 1 [cited 2021 Oct 17];9(10):1519–27.
91. Florean C, Dicato M, Diederich M. Immune-modulating and anti-inflammatory marine compounds against cancer. *Seminars in Cancer Biology*. 2022 May;80:58–72.
92. Yao Y, Sun S, Cao M, Mao M, He J, Gai Q, et al. Grincamycin B Functions as a Potent Inhibitor for Glioblastoma Stem Cell via Targeting RHOA and PI3K/AKT. *ACS Chemical Neuroscience*. 2020 Jun 25;11(15):2256–65.
93. Wang Z, Li Z, Zhao W, Huang H, Wang J, Zhang H, et al. Identification and characterization of isocitrate dehydrogenase 1 (IDH1) as a functional target of marine natural product grincamycin B. *Acta Pharmacologica Sinica*. 2020 Aug 14;42(5):801–13.
94. Calvert AE, Chalastanis A, Wu Y, Hurley LA, Kouri FM, Bi Y, et al. Cancer-associated IDH1 promotes growth and resistance to targeted therapies in the absence of mutation. *Cell Rep*. 2017;19:1858–73.
95. Pan L, Chai H, Kinghorn AD. The continuing search for antitumor agents from higher plants. *Phytochemistry Letters*. 2010 Mar;3(1):1–8.

96. Gairola K, Gururani S, Bahuguna A, Garia V, Pujari R, Dubey SK. Natural products targeting cancer stem cells: Implications for cancer chemoprevention and therapeutics. *Journal of Food Biochemistry*. 2021 May 24;
97. Lathia JD, Mack SC, Mulkearns-Hubert EE, Valentim CLL, Rich JN. Cancer stem cells in glioblastoma. *Genes & Development [Internet]*. 2015 Jun 15;29(12):1203–17.
98. Biserova K, Jakovlevs A, Uljanovs R, Strumfa I. Cancer Stem Cells: Significance in Origin, Pathogenesis and Treatment of Glioblastoma. *Cells*. 2021 Mar 11;10(3):621.
99. Sonabend AM, Carminucci AS, Amendolara B, Bansal M, Leung R, Lei L, et al. Convection-enhanced delivery of etoposide is effective against murine proneural glioblastoma. *Neuro-Oncology*. 2014 Mar 16;16(9):1210–9.
100. Wang Z, Liang P, He X, Wu B, Liu Q, Xu Z, et al. Etoposide loaded layered double hydroxide nanoparticles reversing chemoresistance and eradicating human glioma stem cells *in vitro* and *in vivo*. *Nanoscale*. 2018;10(27):13106–21.
101. Needle MN, Molloy PT, Geyer JR, Herman-Liu A, Belasco JB, Goldwein JW, et al. Phase II study of daily oral etoposide in children with recurrent brain tumors and other solid tumors. *Medical and Pediatric Oncology*. 1997 Jul;29(1):28–32.
102. Gimple RC, Bhargava S, Dixit D, Rich JN. Glioblastoma stem cells: lessons from the tumor hierarchy in a lethal cancer. *Genes & Development*. 2019 Jun 1;33(11-12):591–609.
103. Wang J-B, Pan H-X, Tang G-L. Production of doramectin by rational engineering of the avermectin biosynthetic pathway. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2011 Jun;21(11):3320–3.
104. Gao A, Wang X, Xiang W, Liang H, Gao J, Yan Y. Reversal of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance *in vitro* by doramectin and nemadectin. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2010 Mar;62(3):393–9.
105. Chen C, Liang H, Qin R, Li X, Wang L, Du S, et al. Doramectin inhibits glioblastoma cell survival via regulation of autophagy *in vitro* and *in vivo*. *International Journal of Oncology*. 2022 Feb 8;60(3).
106. Wang J, Liu X, Hong Y, Wang S, Chen P, Gu A, et al. Ibrutinib, a Bruton's tyrosine kinase inhibitor, exhibits antitumoral activity and induces autophagy in glioblastoma. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*. 2017 Jul 17;36(1).
107. Nadeem Abbas, Kausar, Wang, Zhao, Cui. Advances in Targeting the Epidermal Growth Factor Receptor Pathway by Synthetic Products and Its Regulation by Epigenetic Modulators As a Therapy for Glioblastoma. *Cells*. 2019 Apr 12;8(4):350.
108. Charmsaz S, Prencipe M, Kiely M, Pidgeon G, Collins D. Innovative Technologies Changing Cancer Treatment. *Cancers*. 2018 Jun 19;10(6):208.

109. Bittlinger M, Bicer S, Peppercorn J, Kimmelman J. Ethical Considerations for Phase I Trials in Oncology. *Journal of Clinical Oncology*. 2022 Mar 11;
110. Minneci PC, Deans KJ. Clinical trials. *Seminars in Pediatric Surgery* [Internet]. 2018 Dec 1;27(6):332–7.
111. Mokhtari RB, Homayouni TS, Baluch N, Morgatskaya E, Kumar S, Das B, et al. Combination therapy in combating cancer. *Oncotarget* [Internet]. 2017 Mar 31;8(23).
112. Lah TT, Novak M, Pena Almidon MA, Marinelli O, Žvar Baškovič B, Majc B, et al. Cannabigerol Is a Potential Therapeutic Agent in a Novel Combined Therapy for Glioblastoma. *Cells* [Internet]. 2021 Feb 5 [cited 2021 Sep 28];10(2):340.
113. Ghosh D, Nandi S, Bhattacharjee S. Combination therapy to checkmate Glioblastoma: clinical challenges and advances. *Clinical and Translational Medicine* [Internet]. 2018 Oct 16;7(1).
114. Yang J, Shi Z, Liu R, Wu Y, Zhang X. Combined-therapeutic strategies synergistically potentiate glioblastoma multiforme treatment via nanotechnology. *Theranostics*. 2020;10(7):3223–39.
115. Speranza M-C, Nowicki MO, Behera P, et al. BKM-120 (Buparlisib): a Phosphatidylinositol-3 kinase inhibitor with anti-invasive properties in glioblastoma. *Sci Rep* 2016;6:20189.
116. Chakravarti A, Zhai G, Suzuki Y, Sarkesh S, Black PM, Muzikansky A, et al. The prognostic significance of phosphatidylinositol 3-kinase pathway activation in human gliomas. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* [Internet]. 2004 May 15 [cited 2022 May 11];22(10):1926–33.
117. Wachsberger PR, Lawrence YR, Liu Y, Rice B, Feo N, Leiby B, et al. Hsp90 inhibition enhances PI-3 kinase inhibition and radiosensitivity in glioblastoma. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*. 2014 Feb 6;140(4):573–82.
118. Hainsworth JD, Becker KP, Mekhail T, Chowdhary SA, Eakle JF, Wright D, et al. Phase I/II study of bevacizumab with BKM120, an oral PI3K inhibitor, in patients with refractory solid tumors (phase I) and relapsed/refractory glioblastoma (phase II). *Journal of Neuro-Oncology*. 2019 Aug 7;144(2):303–11.
119. Wen PY, Rodon JA, Mason W, Beck JT, DeGroot J, Donnet V, et al. Phase I, open-label, multicentre study of buparlisib in combination with temozolomide or with concomitant radiation therapy and temozolomide in patients with newly diagnosed glioblastoma. *ESMO Open*. 2020;5(4):e000673.
120. Heffron TP, Ndubaku CO, Salphati L, Aliche B, Cheong J, Drobnick J, et al. Discovery of Clinical Development Candidate GDC-0084, a Brain Penetrant Inhibitor of PI3K and mTOR. *ACS Medicinal Chemistry Letters*. 2016 Feb 17;7(4):351–6.

121. Salphati L, Alicke B, Heffron TP, Shahidi-Latham S, Nishimura M, Cao T, et al. Brain Distribution and Efficacy of the Brain Penetrant PI3K Inhibitor GDC-0084 in Orthotopic Mouse Models of Human Glioblastoma. *Drug Metabolism and Disposition*. 2016 Sep 16;44(12):1881–9.
122. Wen PY, De Groot JF, Battiste JD, Goldlust SA, Garner JS, Simpson JA, et al. Escalation portion of phase II study to evaluate the safety, pharmacokinetics, and clinical activity of the PI3K/mTOR inhibitor paxalisib (GDC-0084) in glioblastoma (GBM) with unmethylated O6-methylguanine-methyltransferase (MGMT) promoter status. *Journal of Clinical Oncology*. 2020 May 20;38(15\_suppl):2550–0.
123. Przystal JM, Cianciolo Cosentino C, Yadavilli S, Zhang J, Laternser S, Bonner ER, et al. Imipridones affect tumor bioenergetics and promote cell lineage differentiation in diffuse midline gliomas. *Neuro-Oncology*. 2022 Feb 14;24(9):1438–51.
124. Chan HY, Choi J, Jackson C, Lim M. Combination immunotherapy strategies for glioblastoma. *Journal of Neuro-Oncology*. 2021 Feb;151(3):375–91.
125. Hörnschemeyer J, Kirschstein T, Reichart G, Sasse C, Venus J, Einsle A, et al. Studies on Biological and Molecular Effects of Small-Molecule Kinase Inhibitors on Human Glioblastoma Cells and Organotypic Brain Slices. *Life*. 2022 Aug 17;12(8):1258.
126. Sweeney C, Bracarda S, Sternberg CN, Chi KN, Olmos D, Sandhu S, et al. Ipatasertib plus abiraterone and prednisolone in metastatic castration-resistant prostate cancer (IPATential150): a multicentre, randomised, double-blind, phase 3 trial. *Lancet (London, England)* [Internet]. 2021 Jul 10 [cited 2022 May 3];398(10295):131–42.
127. Dent R, Oliveira M, Isakoff SJ, Im S-A, Espié M, Blau S, et al. Final results of the double-blind placebo-controlled randomized phase 2 LOTUS trial of first-line ipatasertib plus paclitaxel for inoperable locally advanced/metastatic triple-negative breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*. 2021 Jul 15;189(2):377–86.
128. Kaley TJ, Panageas KS, Pentsova EI, Mellinshoff IK, Nolan C, Gavrilovic I, et al. Phase I clinical trial of temsirolimus and perifosine for recurrent glioblastoma. *Annals of Clinical and Translational Neurology*. 2020 Apr;7(4):429–36.
129. Galanis E, Buckner JC, Maurer MJ, Kreisberg JI, Ballman K, Boni J, et al. Phase II Trial of Temsirolimus (CCI-779) in Recurrent Glioblastoma Multiforme: A North Central Cancer Treatment Group Study. *Journal of Clinical Oncology*. 2005 Aug 10;23(23):5294–304.
130. Almeida Pachioni JD, Magalhães JG, Cardoso Lima EJ, Moura Bueno LD, Barbosa JF, Malta de Sá M, et al. Alkylphospholipids – A Promising Class of Chemotherapeutic Agents with a Broad Pharmacological Spectrum. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*. 2013 Dec 20;16(5):742.
131. Pitter KL, Galbán CJ, Galbán S, Saeed-Tehrani O, Li F, Charles N, et al. Perifosine and CCI 779 Co-Operate to Induce Cell Death and Decrease Proliferation in PTEN-Intact and



- PTEN-Deficient PDGF-Driven Murine Glioblastoma. Blagosklonny MV, editor. PLoS ONE. 2011 Jan 18;6(1):e14545.
132. Kaley TJ, Panageas KS, Mellinghoff IK, Nolan C, Gavrilovic IT, DeAngelis LM, et al. Phase II trial of an AKT inhibitor (perifosine) for recurrent glioblastoma. *Journal of Neuro-Oncology*. 2019 Jul 19;144(2):403–7.
  133. Chinnaiyan P, Won M, Wen PY, Rojiani AM, Wendland M, Dipetrillo TA, et al. RTOG 0913: a phase 1 study of daily everolimus (RAD001) in combination with radiation therapy and temozolomide in patients with newly diagnosed glioblastoma. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics [Internet]*. 2013 Aug 1;86(5):880–4.
  134. Chinnaiyan P, Won M, Wen PY, Rojiani AM, Werner-Wasik M, Shih HA, et al. A randomized phase II study of everolimus in combination with chemoradiation in newly diagnosed glioblastoma: results of NRG Oncology RTOG 0913. *Neuro-Oncology*. 2017 Nov 6;20(5):666–73.
  135. O'Reilly KE, Rojo F, She Q-B, Solit D, Mills GB, Smith D, et al. mTOR Inhibition Induces Upstream Receptor Tyrosine Kinase Signaling and Activates Akt. *Cancer Research*. 2006 Feb 1;66(3):1500–8.
  136. Luchman HA, Stechishin ODM, Nguyen SA, Lun XQ, Cairncross JG, Weiss S. Dual mTORC1/2 Blockade Inhibits Glioblastoma Brain Tumor Initiating Cells In Vitro and In Vivo and Synergizes with Temozolomide to Increase Orthotopic Xenograft Survival. *Clinical Cancer Research*. 2014 Oct 14;20(22):5756–67.
  137. Lapointe S, Mason W, MacNeil M, Harlos C, Tsang R, Sederias J, et al. A phase I study of vistusertib (dual mTORC1/2 inhibitor) in patients with previously treated glioblastoma multiforme: a CCTG study. *Investigational New Drugs*. 2019 Nov 9;38(4):1137–44.
  138. Osuka S, Van Meir EG. Overcoming therapeutic resistance in glioblastoma: the way forward. *Journal of Clinical Investigation*. 2017 Feb 1;127(2):415–26.
  139. Mecca C, Giambanco I, Donato R, Arcuri C. Targeting mTOR in Glioblastoma: Rationale and Preclinical/Clinical Evidence. *Disease Markers*. 2018 Dec 18;2018:1–10.