

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - Hospital de Clínicas de Porto Alegre – Serviço de Oncologia

1. Introdução

O Álcool Perílico (AP) é um monoterpene monocíclico hidroxilado, isolado de óleos essenciais de lavanda, hortelã, sementes de aipo, cerejas e outros vegetais. Estudos *in vitro* e *in vivo* mostraram que o AP promove regressão de tumores pancreáticos, hepáticos, de mama e glioblastomas e possui ação quimiopreventiva em câncer de cólon, pele e pulmão. Devido a sua ação promissora na inibição do crescimento de diferentes tipos de tumores, além de apresentar baixa toxicidade, o AP vem sendo testado em estudos clínicos de fase I e II em pacientes com tumores sólidos avançados, através de administração oral diária. Recentemente, estudos clínicos pilotos foram realizados com AP administrado por via inalatória. Estes estudos mostraram mínima toxicidade e evidências de atividade antitumoral.

2. Objetivos

O presente trabalho visa avaliar a segurança da administração do álcool perílico (AP) por via inalatória e realizar a sua análise farmacocinética e do seu principal metabólito (PCOOH), assim como identificar marcadores biológicos e/ou bioquímicos e seu efeito farmacodinâmico.

3. Metodologia

Aos 20 pacientes recrutados, conforme os critérios de elegibilidade determinados pelo protocolo do estudo submetido ao Comitê de Ética do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, foram administradas diferentes doses de AP e realizadas coletas em pontos e dias pré-estabelecidos (Tabela 1).

INICIAIS PACIENTE	Nível	Dose
AJ	I	20 mg/m ²
CD	II	40 mg/m ²
VC	II	40 mg/m ²
NZB	II	40 mg/m ²
MRN	II	40 mg/m ²
VRB	III	66 mg/m ²
MSG	III	66 mg/m ²
GSS	III	66 mg/m ²
NTS	III	66 mg/m ²
CTT	IV	100 mg/m ²
ABP	IV	100 mg/m ²
MMM	IV	100 mg/m ²
TS	V	140 mg/m ²
SDO	VI	280 mg/m ²
ZCB	VI	280 mg/m ²
MRB	VII	560 mg/m ²
DAS	VII	560 mg/m ²
GJC	VII	560 mg/m ²
SEM	VIII	420 mg/m ²
WCS	VIII	420 mg/m ²

Ponto de coleta	Dia de tratamento		
	1	7	14
Antes da nebulização	x	x	x
10 min após início	x	x	x
20 min após início	x	x	x
10 min após término	x	x	x
20 min após término	x	x	x
1 hora após término	x	x	x
2 horas após término	x	x	x
4 horas após término	x	x	x
6 horas após término	x	x	x
8 horas após término	x	x	x

Tabela 1. Doses de AP administradas aos pacientes e pontos de coleta

Testes para desenvolvimento de método de identificação dos padrões do AP e do seu principal metabólito, o ácido perílico (PCOOH), foram realizados utilizando-se equipamentos de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com detector na região ultravioleta no comprimento de onda de 210nm, com diferentes solventes, gradientes e concentrações dos padrões, utilizando-se coluna de fase reversa e volume de injeção de 50 µL (Tabela 2), assim como CLAE acoplada a espectrômetro de massas, a partir do qual se fez *scan* e padrão de fragmentação das amostras, a fim de se identificar e quantificar os compostos presentes no plasma para posterior análise farmacocinética. O perfil de toxicidade foi descrito e a dose máxima tolerável (DMT) definida e recomendada para estudos de fase II. As respostas tumorais foram documentadas e o efeito farmacodinâmico dos marcadores biológicos e/ou químicos identificados através da técnica de PCR em tempo real.

O sangue periférico foi coletado e a fração leucocitária foi obtida. O RNA foi extraído desta fração e transcrição reversa foi realizada a fim de se obter o DNA complementar, o qual foi submetido à técnica de PCR-RT. Durante a amplificação foi realizada normalização com actina e beta-2-microglobulina, cujos genes são constantes, podendo assim ser comparados com o Ras-farnesilado, para determinar a presença ou a perda da expressão do Ras funcional pré e pós início de tratamento.

4. Resultados e Discussão

Todos os cromatogramas obtidos utilizando-se CLAE-UV apresentaram o mesmo padrão de pico triplo. Além disso, o AP e o PCOOH apresentaram o mesmo tempo de retenção, não sendo possível diferenciá-los pelos métodos empregados. O mesmo tempo de retenção deve-se, provavelmente, à semelhança estrutural entre os dois compostos.

Os espectros obtidos utilizando-se CLAE-MS não foram satisfatórios já que se pôde observar a degradação da amostra, devido à elevada temperatura aplicada no método, não podendo ser utilizado para esta análise.

Nenhum paciente apresentou toxicidade de acordo com o Critério de Toxicidade Comum do *National Cancer Institute* (NCI-CTC).

Os pacientes apresentaram tosse a partir da dose 560mg/m², não permitindo o término da inalação, caracterizando baixa tolerância a doses mais elevadas. A DMT foi definida, portanto, como a dose anterior à dose a partir da qual a tosse era causada e recomendada para estudos de fase II.

AP apresentou, no entanto, ser favorável durante o tratamento devido somente ao fato de queixas anteriores como dor e desconforto serem melhoradas durante a administração da medicação.

Solução padrão	Fase móvel	Fluxo (mL/min)
500 ug/mL ACN	ACN:água (40:60)	0,5
500 ug/mL ACN	ACN:água:ácido fórmico (40:60:1)	0,5
200 ug/mL álcool isopropílico	ACN:água (40:60)	0,5
200 ug/mL álcool isopropílico	ACN:água (40:60)	0,8
200 ug/mL metanol:água (1:1)	ACN:água (40:60)	0,5

Tabela 2. Métodos de identificação dos padrões

5. Conclusões e Perspectivas

Os resultados obtidos mostraram que o AP e o PCOOH não são eficientemente detectáveis pelos métodos por CLAE com ambos os detectores testados, UV e espectrômetro de massas.

A partir de estudos preliminares, AP e PCOOH mostraram ser detectáveis por métodos utilizando CG acoplada a detector por espectrometria de massas, sendo esta uma perspectiva de trabalho.

AP mostrou-se seguro na administração, pois não apresentou toxicidade em nenhum paciente recrutado pelo estudo.

A diferença da expressão de Ras-farnesilado não foi significativamente diferente pré e pós início de tratamento (Figura 1), provavelmente, devido ao sangue não ser representativo, apesar de existirem relatos de que a fração leucocitária o seja; ou, devido ao sangue ser dinâmico, o AP não permaneceu tempo suficiente no tecido, não saturando-o.

Sua eficácia quanto à resposta tumoral deverá ser reavaliada após análise farmacocinética realizada na dose recomendada para estudo de fase II e também deverá ser reavaliada a via de administração nebulização, pois os níveis plasmáticos tanto do AP, quanto do PCOOH devem ser detectáveis pelo método de detecção utilizado.

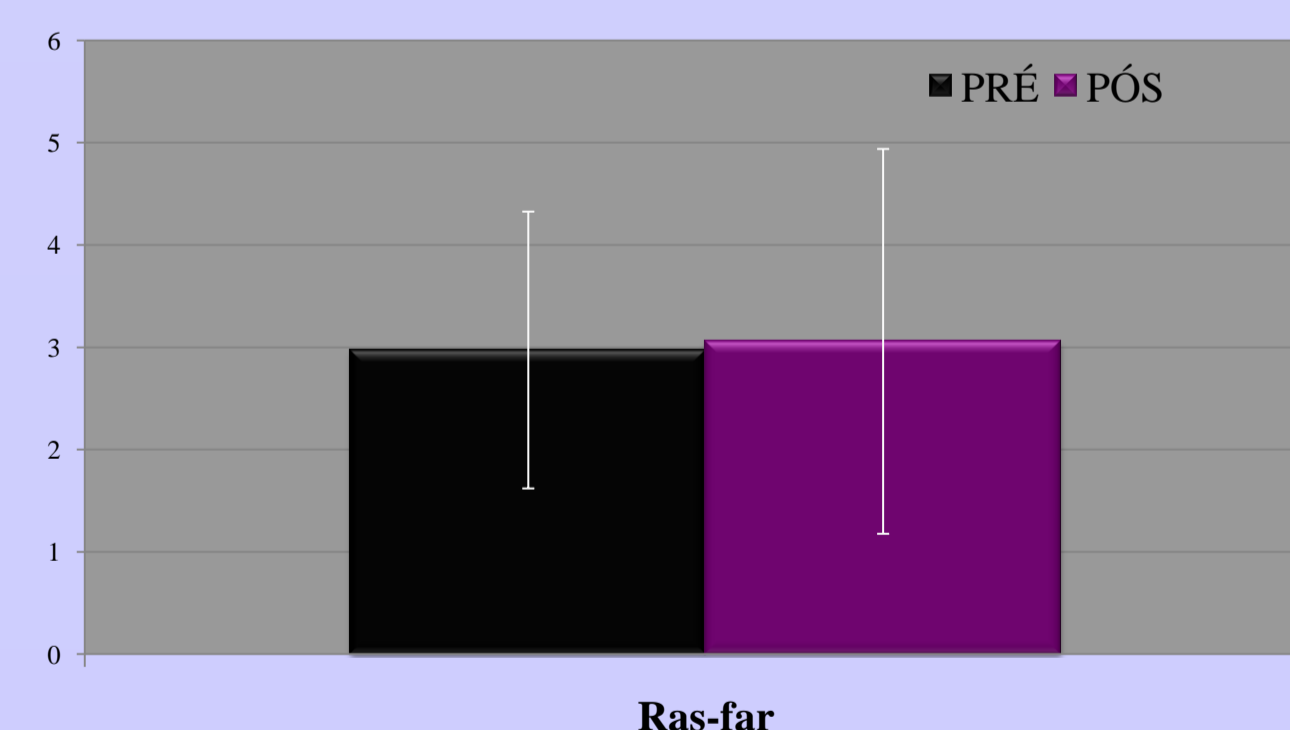


Figura 1. Avaliação dos biomarcadores.

6. Referências bibliográficas

- PHILLIPS, L.R., *et al.* Pharmacokinetics of active drug metabolites after oral administration of perillyl alcohol, na investigational antineoplastic agent, to the dog. *Drug metabolism and disposition*, v. 23, p.676-680, 1995.
- AZZOLI C.G., *et al.* A phase I trial of perillyl alcohol in patients with advanced solid tumors. *Cancer Chemother Pharmacol*, v.51 p. 607-628.
- GUPTA, A., MYRDAL. Development of a perillyl alcohol topical cream formulation. *International journal of pharmaceuticals*, v.269, p.373-383, 2004.
- HARDCASTLE, I. R., ROWLANDS, M. G., BARBER, A. M., GRIMSHAW, R.M., MOHAN, M. K., NUTLEY B. P., JARMAN M. Inhibition of Protein Prenylation by Metabolites of Limonene. *Biochemical Pharmacology*, v. 57, p. 801-809, 1999.
- GUPTA, A., STRATTONB, S. P., MYRDAL, P. B. An HPLC method for quantitation of perillyl alcohol in a topical pharmaceutical cream formulation. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v.37, p.447-452, 2005.
- BAILEY, H. H., *et al.* A phase I trial of perillyl alcohol administered four times daily for 14 days out of 28 days. *Cancer Chemother Pharmacol*, v.54, p. 368-376, 2004.
- MORGAN-MEADOWS, S., *et al.* Phase I trial of perillyl alcohol administered four times daily continuously. *Cancer Chemother Pharmacol*, v.52, p. 361-366, 2003.
- HUDES, G. R., *et al.* Phase I Pharmacokinetic Trial of Perillyl Alcohol (NSC 641066) in Patients with Refractory Solid Malignancies. *Clinical Cancer Research*, v. 6, p. 3071-3080, 2000.

7. Apoio

