

## Resumo Executivo

### AVALIAÇÃO DA MÁXIMA DOSE TOLERADA E SELEÇÃO DE DOSES DA FOSFOETANOLAMINA SINTÉTICA, PRODUZIDA PELO IQSC-USP EM ROEDORES

Patrocinador: **Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação - MCTI**  
Esplanada dos Ministérios, Bloco E  
Brasília, DF

#### 1. INTRODUÇÃO

No Brasil, uma versão sintética da fosfoetanolamina começou a ser produzida e distribuída, no final da década de 1980, pelo químico Dr. Gilberto Orivaldo Chierice, então professor do Instituto de Química da USP - São Carlos (IQSC) – atualmente aposentado. Após afirmações de que esse produto **possuía alto grau de pureza (superior a 99%)**, segundo informado no artigo científico publicado em 2013<sup>1</sup> e teria propriedades de combater vários tipos de câncer, levaram pacientes acometidos pela doença e seus familiares a utilizar as cápsulas produzidas pelo IQSC através da distribuição direta pelo laboratório do Dr. Chierice, mesmo sem os necessários controles de produção. Além disso, não foi realizado nenhum estudo científico necessário ao registro de medicamentos para uso terapêutico (estudos não clínicos e clínicos, conduzidos em ambientes controlados para confirmar sua segurança e eficácia) e, por esta razão, a substância em questão não possui registro junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Diante da necessidade urgente de compreender principalmente a segurança da Fosfoetanolamina, o Governo Federal sentiu-se na obrigação a dar uma resposta à sociedade. Esse quadro tornou-se ainda mais grave quando pacientes portadores de câncer, conseguiram, via judicial, autorização para que a USP fornecesse a Fosfoetanolamina.

Diante do exposto acima, os estudos iniciais referentes à segurança e a eficácia da fosfoetanolamina foram solicitados pelo Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação (MCTI) e foram iniciados em Janeiro de 2016, com a finalidade de fornecer avaliar a segurança e a eficácia desse composto, visando fornecer subsídios à realização dos estudos clínicos de fase I para testar sua segurança em humanos. Para tal, foram contatados, o LASSBIO/RJ (para a realização dos estudos químicos), o CIEnP/SC (para a realização dos estudos não clínicos em roedores) e o NPDM/CE (para a realização dos estudos clínicos de fase I). Assim, como primeira etapa, foram realizados os estudos necessários para a caracterização química do produto fornecido pelo IQSC-SC, produzido pelo Sr. Salvador Claro Neto, cuja pureza acreditava-se ser elevada. O MCTI então solicitou o produto ao IQSC-USP e **a própria USP**, e junto com as amostras enviadas, foi adicionada uma análise química realizada pelo IQSC-USP realizada em **dezembro de 2015**, concluindo que o produto não era puro e sim uma mistura de monoetanolamina, fosfoetanolamina, sal de fosfoetanolamina (conforme tabela 1 abaixo) e recomenda que **as cápsulas como fornecidas são inadequadas para o consumo**, especialmente por crianças, adolescentes e adultos com o sistema imunológico fragilizado por câncer<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Ferreira AK, Santana-Lemos BAA, Rego EM, Filho OMR, Chierice GO and Maria DA. Synthetic phosphoethanolamine has in vitro and in vivo anti-leukemia effects, British Journal of Cancer, (2013) **109**, 2819–2828.

<sup>2</sup> O relatório e devidas considerações foi assinado pelo Dr. Ass: Prof. Dr. Germano Tremiliosi Filho, Diretor do IQSC-USP.

Em continuidade ao estudo, o LASSBIO – ICB/UFRJ, Coordenado pelo Dr. Eliézer Barreiro, em parceria com o Laboratório de Química Orgânica Sintética – IQ/UNICAMP, coordenado pelo Dr. Luiz Carlos Dias, realizou a análise química das cápsulas produzidas sob a responsabilidade do Sr. Salvador Neto (IQSC-USP) e o resultado demonstrou que a quantidade média de “fosfoetanolamina sintética” foi de 323,56 mg, **176,43 mg a menos, por cápsula**, uma vez que o rótulo indicava 500 mg por cápsula. Além disso, demonstrou que o produto realmente não é puro (componente e concentrações apresentados na tabela 1).

A tabela 1 abaixo resume as diferentes análises e composições encontradas para a fosfoetanolamina

PESQUISADORES/ INSTITUIÇÕES	COMPONENTES ENCONTRADOS					
	Fosfoetanolamina	Monoetanolamina	Sal de Fosfoetanolamina	Fosfobisoetanolamina	Fosfatos	Água
Ferreira, AK et al., 2013 USP - São Carlos *	>99%	-	-	-	-	-
Instituto de Química USP - São Carlos, 2015	16,9%	37,5%	45,6%	-	-	-
Luiz Carlos Dias – UNICAMP Eliezer Barreiros – UFRJ, 2016	32,2% (sendo 6,2% associada a íons metálicos)	18,2%	-	3,9%	38,5%	7,2%

\* Citação completa: Ferreira AK, Santana-Lemos BAA, Rego EM, Filho OMR, Chierice GO and Maria DA. Synthetic phosphoethanolamine has in vitro and in vivo anti-leukemia effects, British Journal of Cancer, (2013), **109**, 2819–2828.

Finalizada a etapa 1, passou-se então aos estudos não clínicos para avaliar a segurança e eficácia do produto produzido pelo IQSC-USP e substâncias puras sintetizadas pelo LQOS/UNICAMP (que inicialmente não faziam parte do escopo contratado pelo MCTI, mas a equipe decidiu que sua análise seria de fundamental importância para a conclusão do estudo solicitado pelo MCTI). Esta etapa encontra-se em andamento e os primeiros resultados seguem em anexo.

## 2. OBJETIVOS

Avaliar a DOSE MÁXIMA TOLERADA da fosfoetanolamina (sintetizada pelo grupo de Química da USP-São Carlos) em roedores. O teste da dose máxima tolerada ou MTD, (do inglês *Maximum Tolerated Dose*), bem como o escalonamento de doses, é um teste comumente utilizado para seleção das doses a serem utilizadas nos estudos regulados de toxicologia subsequentes com duração de até 30 dias. É um teste exploratório e utiliza um número reduzido de animais. Esse protocolo é uma parte importante da toxicologia, pois identifica qual a dose máxima capaz de evidenciar os sinais de toxicidade, sendo relevante para a condução dos estudos subsequentes de toxicidade, que empregam um número maior de animais (NC3Rs LASA, 2009). É normalmente avaliada através de parâmetros como sinais clínicos, alteração de peso corporal, consumo de comida, morbidade e mortalidade.

## 3. MATERIAIS E MÉTODOS

### 3.1 Seleção de doses e máxima dose tolerada

O protocolo experimental para a condução do estudo de seleção de doses foi realizado em duas etapas diferentes a fim de determinar a dose máxima tolerada, assim como descrito a seguir:

**Etapa I:** Determinação da MTD pela administração única da substância teste através do sistema de escalonamento de doses: cinco grupos experimentais (3 machos e 3 fêmeas/grupo, ratos da linhagem Sprague Dawley, S.P.F., obtidos no biotério do CIEnP), sendo um grupo controle (veículo) e quatro grupos de tratamento com a substância teste. Os animais do primeiro grupo (grupo 1) receberam a formulação contendo

a substância teste (175 mg/kg) em uma única administração. Os animais foram observados por um período de 48 horas para detectar possíveis sinais de toxicidade. De acordo com o protocolo, se fossem observados sinais de toxicidade nos animais do grupo 1, uma dose menor seria administrada a um novo grupo de animais (grupo 2), caso contrário, uma dose maior seria administrada ao novo grupo de animais, chegando à dose limite de 5.000 mg/kg de peso.

**Etapa II:** Estudo de toxicidade de doses repetidas de 7 dias – os resultados obtidos na primeira etapa determinaram a dose a ser administrada de maneira repetida por 7 dias. O protocolo consistiu na utilização de dois grupos experimentais, sendo o grupo 1 tratado com a substância controle veículo (5 machos e 5 fêmeas), e o grupo 2, tratado com a substância teste (1.000 mg/kg, selecionada na etapa anterior) (5 machos e 5 fêmeas). Todos os animais (Etapa I e II) foram eutanasiados 14 dias após o primeiro tratamento para análises subsequentes.

### 3.2 Avaliações

Foram realizadas diferentes observações clínicas e comportamentais, análises hematológicas, bioquímicas e histopatológicas (para detalhamento das análises realizadas, consultar relatório técnico do estudo no. : 021-MTD-022-15).

## 4. RESULTADOS

Na etapa I do presente teste, os animais receberam até a dose limite recomendada (5.000 mg/kg), sem no entanto, apresentar qualquer alteração nos parâmetros avaliados, sejam eles observações clínicas, análises bioquímicas e hematológicas, ingesta alimentar e ou peso corporal. Pelo fato da MTD não ter sido encontrada, para a etapa II (administrações repetidas 7 dias), optou-se utilizar a dose de 1.000 mg/kg, que, em roedores, é equivalente a aproximadamente uma dose 2,5 vezes superior a dose utilizada em humanos. Além disso, na maioria dos casos, é considerada uma dose limite para estudos de administração repetida da substância teste (Guidance for Industry M3(R2) Nonclinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorization for Pharmaceuticals, ICH 2010). De maneira similar à etapa anterior, na etapa II o tratamento repetido com a dose de 1000 mg/kg não foi capaz de causar nenhuma alteração importante nos parâmetros avaliados.

## 5. CONCLUSÃO DO ESTUDO

Os resultados obtidos no presente estudo demonstraram que os tratamentos realizados, nos períodos avaliados – dose única até 5000 mg/kg via oral (etapa I), ou através de doses repetidas (1.000 mg/kg) durante 7 dias (etapa II), a substância teste não apresentou nenhum sinal indicativo de toxicidade em nenhum dos parâmetros avaliados.

## 6. PRÓXIMAS ETAPAS

Realizar estudo de toxicidade com doses repetidas (3 doses da substancia teste por via oral) por 28 dias, conforme preconizado no Guia da OECD no. 407.