



Métodos de Transposição de Doses Obtidas em Farmacologia Pré-Clínica Para Ensaio Clínico Fase 1: Antipsicóticos Como Estudo de Caso

Camila B. ANTONIO ¹, Teresa D. COSTA ², Gilda NEVES ¹ & Stela M.K. RATES ^{1*}

¹ *Laboratório de Psicofarmacologia Experimental &*

² *Laboratório de Farmacocinética, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
Avenida Ipiranga, 2752, Porto alegre – RS, CEP 90610-000, Brasil.*

RESUMO. Os métodos utilizados para cálculo da dose inicial em ensaios clínicos fase 1 foram revisados e aplicados ao derivado *N*-fenilpiperazínico LASSBio-579, candidato a antipsicótico, e aos antipsicóticos clorpromazina, clozapina, haloperidol e aripiprazol. Os métodos utilizam parâmetros toxicológicos e parâmetros farmacológicos, como a maior dose não tóxica em animais (NOAEL) ou doses ativas em animais, respectivamente. Com base no NOAEL (discrasia sanguínea e catatonias em ratos e camundongos), a dose inicial para LASSBio-579 seria 3 mg e máxima, 37,5 mg. Com base nas doses ativas (modelo de escalada induzida por apomorfina em camundongos), a dose inicial para LASSBio-579 ficaria entre 7,0-70,0 mg. Esta variação de doses também foi observada para os antipsicóticos de mercado. O método que mais se aproximou das doses terapêuticas foi o de Kuhlman (1997), baseado em doses ativas em animais.

SUMMARY. “Transposition Methods of Doses obtained from Pre-Clinical Pharmacology for Phase 1 Clinical Trials: Antipsychotics Like Study of Case”. The methods used to calculate the initial dose for phase 1 clinical trials were reviewed and applied to LASSBio-579, an *N*-phenylpiperazine derivative antipsychotic lead, and antipsychotic drugs: chlorpromazine, clozapine, haloperidol and aripiprazole. The methods use toxicological and pharmacological parameters, such as the highest non toxic dose in animals (NOAEL) and effective dose. Based on NOAEL (induction of extrapyramidal effects and blood discrasia) in rodents, the first dose of LASSBio-579 would be 3 mg and the maximum 37.5 mg. Based on active doses (apomorphine-induced climbing), the first dose of LASSBio-579 would be in the range 7-70 mg. This large variation was also observed for the antipsychotic drugs on the market, where the method that most closely approximated the doses used in therapy was the Kuhlman method (1997), based on active doses.

PALAVRAS CHAVE: Antipsicóticos, Derivado *N*-fenilpiperazínico, Dose inicial em humanos, LASSBio-579, Transposição de doses.

KEY WORDS: Antipsychotic, LASSBio-579, *N*-phenylpiperazine derivative, Starting dose in humans, Transposition of doses.

* Autor a quem correspondência deve ser enviada: *E-mail*: ratesmk@ufrgs.br

INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de novos medicamentos e tratamentos para diferentes doenças inicia com o descobrimento de uma nova molécula potencialmente ativa. Durante o desenvolvimento farmacêutico, um grande número de moléculas é gerado, com o intuito de identificar os candidatos mais promissores para um desenvolvimento futuro^{1,2}.

As moléculas promissoras são freqüentemente selecionadas usando testes *in vitro*, que examinam a ligação a receptores específicos, efeitos sobre a atividade de enzimas, e efeitos tóxicos. Candidatos que não são rejeitados durante esses testes preliminares são preparados em maior quantidade para testes em animais^{1,2}.

O desenvolvimento de novos fármacos é um processo contínuo, mas para um melhor entendimento pode ser dividido em fases¹. Fase 0 ou fase pré-clínica ocorre após o descobrimento, caracterização e seleção da nova molécula. Essa fase inclui: avaliação farmacológica em geral; avaliação da toxicologia *in vitro* e *in vivo*, incluindo estudos genotóxicos e citotóxicos; desenvolvimento e avaliação de modelos de eficácia em animais; desenvolvimento de métodos bioanalíticos e estudos ADME (absorção, distribuição, metabolismo e excreção), importantes no planejamento e monitoramento dos estudos clínicos^{1,3,4}.

A fase clínica é dividida em quatro fases. Na fase 1, na qual ocorre a primeira exposição de humanos ao novo candidato a fármaco, são avaliadas tolerância, segurança e farmacocinética. Estudos de biodisponibilidade ocorrem nesta fase e podem incluir regimes de doses múltiplas, dados que serão utilizados na fase 2^{1,3,4}.

Na fase 2, os estudos são conduzidos na população de interesse. A fase 2 é geralmente dividida em "a" e "b". A fase 2a é conduzida em um número pequeno de pacientes para explorar a dose inicial e o regime de doses para produzir o efeito clínico desejável. Mecanismo de ação e eficácia na forma farmacêutica escolhida também são parâmetros avaliados. A fase 2b é conduzida em um número maior de pacientes para conferir ou refinar a escolha e o regime de dose e verificar a eficácia de doses limites^{1,3,4}.

A fase 3 é conduzida em 400-5000 pacientes para avaliar a segurança clínica e eficácia das doses limites. Esta fase compara a nova substância com tratamentos conhecidos e/ou com placebo em estudos cegos controlados^{1,3,4}.

Na fase 4, o medicamento já está no mercado. São avaliadas eficácia e reações adversas em

grande escala, bem como novas indicações e novas formas farmacêuticas^{1,3,4}.

Os estudos pré-clínicos fornecem subsídios para os testes em humanos. Porém, a transposição de doses de animais para humanos é um dos grandes impasses no desenho experimental de farmacologia clínica fase 1. A decisão de como os estudos realizados em animais podem ser extrapolados para humanos relaciona-se com a compreensão da farmacologia e toxicidade desta nova molécula, bem como da doença alvo, fisiologia dos organismos estudados e comparação farmacológica com outros agentes terapêuticos já utilizados.

Neste trabalho é apresentada uma revisão bibliográfica sobre as abordagens para cálculo de dose inicial em estudos clínicos, a partir de resultados obtidos em estudos farmacológicos pré-clínicos. As diferentes abordagens serão aplicadas a um derivado *N*-fenilpiperazínico – LASSBio-579 – planejado pelo Laboratório de Avaliação e Síntese de Substâncias Bioativas - Universidade Federal do Rio de Janeiro, como candidato a protótipo de fármaco antipsicótico e, também, aos antipsicóticos clorpromazina, haloperidol, clozapina e aripiprazol.

Estudos pré-clínicos demonstraram que o derivado *N*-fenilpiperazínico LASSBio-579 apresenta um perfil farmacológico compatível com ação antipsicótica, podendo ser utilizado como protótipo para o desenvolvimento de novos fármacos⁵⁻¹⁰. Esta substância é objeto de uma solicitação de depósito de patente (PI 0303465-8)⁵.

MATERIAIS E MÉTODOS

A revisão bibliográfica foi realizada no período de março a maio de 2008 na base de dados Pubmed (www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/), acessada neste mesmo período. As palavras chaves foram "*starting dose and phase 1*", "*first dose into humans*", "*transposition of doses*", "*interspecies scaling*". As buscas foram limitadas para "animais".

Para o cálculo de transposição de doses para humanos foram consideradas: a maior dose na qual não foram observados efeitos adversos (NOAEL – *no observable adverse effect level*), a menor dose efetiva ou a dose que produziu metade do efeito máximo (DE₅₀) nos ensaios farmacológicos pré-clínicos.

Como efeitos tóxicos foram considerados: discrasias sanguíneas e efeitos extrapiramidais, dependendo da disponibilidade dos dados.

Para escolha da dose farmacologicamente ativa, o modelo animal utilizado foi o de bloqueio do comportamento de escalada induzido por

apomorfin, preditivo de efeito antipsicótico.

As palavras chaves utilizadas para busca de modelos animais de efeitos adversos foram: “*extrapyramidal effects and clozapine*”, “*extrapyramidal effects and haloperidol*”, “*extrapyramidal effects and aripiprazole*”, “*extrapyramidal effects and chlorpromazine*” e “*blood discrasia*” com cada antipsicótico.

As diretrizes publicadas pela *Food and Drug Administration* – FDA (2005, 2006), (www.fda.gov/cder/guidance/index.htm), também foram utilizadas como fonte para revisão de métodos de transposição de doses. A base de dados do MICROMEDEX (www.thomsonhc.com/hcs/librarian) foi utilizada como fonte para as doses dos medicamentos utilizados na terapêutica para esquizofrenia.

Artigos referenciados por outros artigos encontrados nas fontes acima citadas também foram utilizados como fonte bibliográfica.

Para a transformação da unidade de mg/kg para mg/m² foi utilizado a equação [1] para cálculo de área superficial dos animais ¹²:

$$BSA (m^2) = 1,85 (W/70)^{2/3} \quad [1]$$

onde BSA é a área superficial corporal e W é o peso do animal em quilograma.

Como superfície corporal humana foi considerado o valor médio (1,8 m²) para um humano de 70 kg, descrito por Reigner & Blesch ¹².

Substituindo na equação, um camundongo de 0,025 kg possui uma área corporal de 0,009 m². Por regra de três, transformou-se as dosagens de mg/kg para mg/m². Após, multiplicou-se a dose em mg/m² pela área superficial humana, segundo Reigner e Blesch ¹², achando-se assim a dose para humanos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Métodos para Transposição de Doses

Diferentes métodos têm surgido, com resultados variáveis, e a estimativa que funciona para uma substância muitas vezes não é apropriada para outra. É importante encontrar uma dose que seja baixa suficiente para ser segura nas fases iniciais dos estudos em humanos, mas não tão baixa que renda um custo excessivo e muito tempo para definição das doses nos estudos de eficácia ¹².

Para substâncias não citotóxicas, geralmente utiliza-se uma dose única ascendente em voluntários saudáveis, com a qual se avalia a tolerabilidade, farmacocinética e farmacodinâmica. Essa

dose é estimada nos ensaios pré-clínicos de toxicidade e ajustada para humanos através de fatores de correção que garantam a segurança. Uma dose ótima é aquela segura, farmacodinamicamente inativa, mas perto de um efeito mínimo farmacodinâmico efetivo em humanos ¹².

Estudos de doses iniciais para substâncias citotóxicas são conduzidos em pacientes com câncer refratários ao tratamento. Em oncologia, toxicidade para atingir um efeito terapêutico é considerada aceitável. O cálculo de dose inicial para antineoplásicos é preferivelmente baseado em doses que causaram algum efeito tóxico ¹².

Segundo o FDA (2006) ² as doses calculadas devem ser baseadas na via de administração pretendida para humanos.

Métodos usados para transposição de doses de substâncias citotóxicas

Segundo Reigner & Blesch ¹², há duas maneiras de fazer esta estimativa. Uma baseia-se na mais baixa dose tóxica (TDL) em animais de grande porte e a outra, na dose letal para camundongos.

1/3 da TDL (toxic dose low) em animais de grande porte

TDL é definida como a dose mais baixa que produz uma alteração patológica em parâmetros hematológicos, químicos, clínicos ou morfológicos. A TDL é determinada através de dose única e dose diária por 5 dias. A dose é estimada, então, em 1/3 da TDL em animais de grande porte (cachorro, macaco), expressa em mg/m².

1/10 da DL₁₀ (dose letal para 10% dos camundongos).

A DL₁₀ também é determinada pela administração de dose única e dose diária por 5 dias, com um grupo de 10 camundongos para cada dose. A estimativa então é feita multiplicando-se o fator 1/10 pela DL₁₀.

Métodos usados para transposição de doses de substâncias não-citotóxicas

Métodos baseados em parâmetros toxicológicos

Dose baseada no NOAEL

Segundo o FDA ², a dose inicial (primeira usada em estudos clínicos fase 1) não deve ser maior que 1/50 do NOAEL do estudo toxicológico de duas semanas na espécie mais sensível (que apresenta reação a doses mais baixas). A dose clínica máxima usada nas demais fases do estudo clínico e, eventualmente, na terapêutica, pode ser estimada de diferentes formas ²: 1/4 do NOAEL em roedores no ensaio toxicológico de duas semanas (mg/m²); até 1/2 da ASC (área sob

a curva) do NOAEL em roedores ou a ASC em cães, calculada a partir do valor de roedores; a dose que produz um efeito farmacológico e/ou farmacodinâmico observável no ensaio clínico; a dose na qual foi observado algum efeito adverso em ensaio clínico. Independente de quais ou quantos destes métodos foram utilizados, a dose clínica máxima deve ser sempre a menor estimada.

Segundo o FDA ¹³, a dose equivalente em humanos baseada no NOAEL é chamada de HDE (*human equivalent dose*) e a máxima dose para humanos é conhecida como MRSD (*maximum recommended starting dose*).

Reigner & Blesch ¹² também utilizam o NOAEL para o cálculo da dose inicial em humanos, com algumas diferenças. A dose é calculada em mg/kg/dia e multiplicada por um ou mais fatores de segurança. O NOAEL deve ser baseado no estudo toxicológico de 4 a 13 semanas, sendo a dose inicial máxima a menor das seguintes: 1/10 do NOAEL em roedores; 1/6 do NOAEL em cães; 1/3 do NOAEL em macacos.

A dose ainda pode ser reduzida multiplicando-se a dose estimada por mais um fator de segurança arbitrário.

Abordagem por similaridade entre substâncias

Quando há uma base de dados de segurança em humanos para uma substância similar, esta pode servir para a substância em estudo. A substância similar é geralmente da mesma classe química, com uma estrutura molecular semelhante. Esta aproximação é baseada na proporção da dose clínica segura calculada para substância similar a partir do seu NOAEL; assim, assume-se que a proporção para substância sob investigação é igual para o seu NOAEL ¹². A suposição pode ser expressa como na equação [2]:

$$SD_s / NOAEL_s = SD_i / NOAEL_i \quad [2]$$

onde SD_s significa a dose ótima de início para o medicamento similar; SD_i é a dose que será estimada para a nova substância; NOAEL é a dose mais alta onde não é observado efeito adverso sendo "s" para o medicamento já estudado e "i" para a substância em investigação. A limitação dessa aproximação está em assumir que as diferenças farmacocinéticas e farmacodinâmicas entre animais e humanos são as mesmas para ambas as substâncias.

Abordagem farmacocinética

Essa abordagem é amplamente utilizada pela indústria farmacêutica, juntamente com o mé-

do baseado no NOAEL, porém demanda um custo bastante elevado, pois requer o estudo de parâmetros farmacocinéticos em, no mínimo, três espécies diferentes ¹².

Esse método baseia-se na área sob a curva (ASC) da dose NOAEL. Se este parâmetro está disponível para mais de uma espécie, o animal com menor ASC é utilizado. O *clearance* (CL_{est}) da substância estimado para humanos por alometria (método empregado para prever parâmetros farmacocinéticos) pode ser utilizado para estimar a dose correspondente à ASC, como segue na equação [3] ¹²:

$$Dose = ASC \times CL_{est} \quad [3]$$

A escala alométrica ^{14,15} vem sendo utilizada para prever parâmetros farmacocinéticos em humanos e é baseada na equação [4]:

$$y = a \cdot W^x \quad [4]$$

onde y é a variável dependente (*clearance*, volume de distribuição, etc.), W é o peso corporal (componente invariável) e "a" e "x" são o coeficiente alométrico e o expoente, respectivamente. Os valores de "a" e "x" podem ser obtidos por regressão linear, colocando o parâmetro que se deseja, por exemplo, *clearance*, versus o peso corporal em uma escala logarítmica, obtendo-se então a equação [5]:

$$\log \text{variável dependente (no animal)} = \log(a) + x \log(W) \quad [5]$$

Para utilizar a escala alométrica, são necessários dados obtidos de, no mínimo, três espécies animais. Essa aproximação assume similaridades interespecies na relação concentração x efeito e seu sucesso depende da confiabilidade da previsão dos parâmetros farmacocinéticos em humanos, baseados nos experimentos pré-clínicos *in vivo* e *in vitro*. Muitos fatores externos podem afetar a escala alométrica, tais como: modelo experimental, espécies, erros analíticos e propriedades físico-químicas das substâncias, excreção renal ou biliar, podem ter impacto na extrapolação alométrica ¹⁵.

Métodos baseados em doses eficazes

Para algumas substâncias, particularmente aquelas que apresentam alto índice terapêutico, a dose baseada no ensaio toxicológico pode não ser satisfatória. Isto ocorre porque a dose que não causou nenhum efeito adverso nos estudos de toxicologia pode ter algum efeito farmacodinâmico. Para evitar que a dose inicial dessas substâncias seja ativa em humanos, a do-

se estimada deve ser menor que a estimada baseando-se no estudo toxicológico ¹².

A dose que é estimada para ser a mais alta sem ser ativa em humanos pode ser obtida por uma variação dos métodos descritos.

Posvar & Sedman ¹⁶ sugerem que a dose inicial deve estar entre 1/1000 e 1/10 da dose máxima que não causou efeito nos estudos farmacológicos. Kuhlman ⁴ sugere que a dose deve estar entre 1/10 e 1/5 da dose efetiva em animais. Thomas (*apud* Reigner & Blesch) ¹² observa que cada caso deve ser estudado isoladamente, porém em geral as doses ficam na faixa de 1/100 e 1/10 da DE₅₀ (dose com 50% do efeito máximo). Broom (*apud* Reigner & Blesch) ¹² recomenda uma dose inicial em torno de 1/50 da dose farmacologicamente efetiva na espécie mais sensível estudada.

A abordagem farmacocinética pode ser usada para estimar a dose inicial baseada na ASC da dose farmacologicamente inativa nos estudos farmacológicos. Assim, o NOAEL é substituído pela dose farmacodinamicamente inativa na equação [3] ¹².

Recentemente, foram publicadas pela Conferência Internacional para Harmonização de Requisitos Técnicos para Registro de Produtos Far-

macêuticos para Uso Humano ¹⁷, recomendações para estimativa das doses iniciais e máximas a serem utilizadas em estudos clínicos. Estas recomendações levam em consideração os métodos acima descritos, orientando-se pelos valores de NOAEL, ASC e doses efetivas em espécies roedoras e não roedoras. São previstas diferentes abordagens dependendo dos estudos disponíveis, sendo aproveitados estudos de toxicidade pré-clínica com dose única e com doses repetidas (duas semanas). São citados como doses iniciais valores de 1/10 NOAEL, 1/50 NOAEL, 1/2 da ASC do NOAEL em roedores.

Aplicação dos Métodos

Dos métodos apresentados acima, apenas o método baseado no NOAEL ² e as variações sugeridas por Kuhlmann (1997) ⁴ e Broom (*apud* Reigner & Blesch) ¹² foram aplicados para LASSBio-579 devido à falta de dados para fazer a estimativa pelos demais métodos. Para os antipsicóticos já disponíveis no mercado, a variação sugerida por Thomas (*apud* Reigner & Blesch) ¹² também foi aplicada.

Antipsicóticos do Mercado

Dose baseada no NOAEL

	Haloperidol	Clorpromazina	Clozapina	Aripiprazol
NOAEL – Catatonia (camundongos)	0,1 mg/kg (i.p.) ¹⁸⁻²⁰ = 0,28 mg/m ²	0,3 mg/kg (i.p.) ¹⁹ = 0,83 mg/m ²	2,5 mg/kg (i.p.) ¹⁸ = 6,9 mg/m ²	1,0 mg/kg (i.p.) ²⁰ = 2,78 mg/m ²
Dose efetiva (DE) (<i>climbing</i>)	0,1 mg/kg (i.p.) ²⁰	4,0 mg/kg (v.o.) ²²	40 mg/kg (i.p.) ²⁰	1 mg/kg (i.p.) ²⁰
DE50 (<i>climbing</i>)	0,07 mg/kg (i.p.) ¹⁸	2,0 mg/kg (v.o.) ²³	4,0 mg/kg (i.p.) ¹⁸	2,2 mg/kg (i.p.) ²⁰
Dose calculada para fase 1 baseada no NOAEL*	Inicial: 0,01 mg Máx.: 0,1 mg	Inicial: 0,03 mg Máx.: 0,37 mg	Inicial: 0,25 mg Máx.: 3,1 mg	Inicial: 0,1 mg Máx.: 1,25 mg
Dose inicial fase 1: mét. Broom (1/50 DE)	0,14 mg	5,6 mg	56 mg	1,4 mg
Dose inicial fase 1: mét. Kuhlman (1/10 - 1/5 DE)	28,0 – 56,0 mg	280 – 560 mg	7,0 – 14 mg	0,7 – 1,4 mg
Dose inicial fase 1: mét. Thomas (1/100 - 1/10 DE ₅₀)	0,049 – 0,49 mg	1,4 – 14 mg	2,8 – 28 mg	1,54 – 15,4 mg
Dose utilizada na Terapêutica ²¹	Mín.: 0,5 mg (v.o.) 2,0 mg (i.m.) Máx.: 5,0mg(v.o.;i.m.)	Mín.: 25 mg (v.o.;i.m.) Máx.: 50 mg (v.o.;i.m.)	Mín.: 100 mg (v.o.) Máx.: 300 mg (v.o.)	Mín.: 10 mg (v.o.) 5,25 mg (i.m.) Máx.: 15 mg (v.o.; i.m.)

Tabela 1. Comparação entre as doses calculadas para ensaio clínico fase 1 para antipsicóticos de primeira e segunda geração pelo método baseado no NOAEL e pelas variações propostas por Kuhlman ⁴, Broom e Thomas (*apud* Reigner & Blesch) ¹² e doses utilizadas na terapêutica. *Inicial: 1/50 do NOAEL x 1,8 m²; Máxima: 1/4 do NOAEL x 1,8 m².

A maior dose na qual não foi observado nenhum efeito catatônico (NOAEL) em roedores foi utilizada para o cálculo. A indução de catatonía em animais é preditiva do potencial de indução de efeitos extrapiramidais, limitantes do tratamento em humanos.

As doses foram calculadas para uma pessoa de 70 kg, que apresenta uma área superficial média de 1,8 m². A dose inicial é calculada como 1/50 do NOAEL². Para dose máxima, os cálculos foram realizados de acordo com o que segue: 1/4 do NOAEL em roedores, em mg/m². Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 1.

Métodos baseados em doses eficazes

Dentre as variações apresentadas, as escolhidas foram aquelas sugeridas por Broom (*apud* Reigner & Blesch)¹², Kuhlman⁴ e Thomas (*apud* Reigner & Blesch)¹². Estes autores sugerem a dose farmacologicamente ativa, em animais, para o cálculo. Como parâmetro para escolha dessas doses foi escolhido o teste de *climbing* (comportamento de escalada) em camundongos. Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 1.

Na maioria das vezes, as doses calculadas para os medicamentos já comercializados nem se aproximaram das doses utilizadas na terapêutica. As doses calculadas pela proposta de Kuhlman⁴ foram as que mais se aproximaram das doses utilizadas na terapêutica. O método baseado no NOAEL² e as variações propostas por Broom e Thomas (*apud* Reigner & Blesch)¹², resultaram em doses consideravelmente mais baixas. Isto é esperado, visto que as doses estimadas para os estudos de fase 1 são em geral baixas para garantir a segurança dos pacientes

¹². O incremento das doses ocorre nas fases subsequentes¹⁷. De toda maneira, uma conclusão definitiva sobre o quanto às doses iniciais e máximas, para o estudos de fase 1, estimadas nesse trabalho podem ser consideradas excessivamente baixas, em relação às doses terapêuticas, não pode ser assumida. Os parâmetros de toxicidade e eficácia pré-clínicas e os métodos de cálculo utilizados pelas empresas que desenvolveram estes medicamentos podem não ter sido os mesmos arbitrariamente escolhidos neste trabalho.

Estimativa para LASSBio-579

Dose baseada no NOAEL

A estimativa foi realizada com dados obtidos do modelo animal de catatonía (para via i.p.), realizado por Neves *et al.*⁹. Não foram calculadas doses pela via oral, pois nos experimentos farmacológicos realizados LASSBio-579 não apresentou efeito catatônico⁸. A dose inicial também foi estimada com doses obtidas do ensaio toxicológico de discrasias sangüíneas. Neste teste foi testada apenas a dose de 30 mg/kg (não catatônica - 14 dias de administração), a qual não apresentou nenhum efeito tóxico sobre os elementos figurados do sangue⁸. Os resultados estão apresentados na Tabela 2.

Métodos baseados em doses eficazes

As doses calculadas foram estimadas com base nas variações de Broom (*apud* Reigner & Blesch)¹² e Kuhlman⁴. A dose efetiva no comportamento de escalada foi escolhida. Os resultados encontram-se na Tabela 2.

Da mesma forma que para os antipsicóticos empregados na terapêutica estudados nesse tra-

Dados LASSBio-579	
NOAEL – Catatonía (camundongos)	30 mg/kg (i.p.) 8 = 83,3 mg/m ²
NOAEL – Tox. sanguínea (camundongos)	30 mg/kg (i.p.) 8 = 83,3 mg/m ²
Dose efetiva (DE) (<i>climbing</i>)	5 mg/kg (v.o.) 8
Dose calculada para fase 1 baseada no NOAEL* - catatonía e tox. Sanguínea	Inicial: 3 mg Máx.: 37,5 mg
Dose inicial fase 1: método de Broom (1/50 DE)	7 mg
Dose inicial fase 1: método de Kuhlman (1/10 - 1/5 DE)	35,0 – 70,0 mg

Tabela 2. Doses calculadas para ensaio clínico fase 1 para LASSBio-579 pelo método baseado no NOAEL e pelas variações propostas por Kuhlman⁴, Broom e Thomas (*apud* Reigner & Blesch)¹² *Inicial: 1/50 do NOAEL x 1,8 m²; Máxima: 1/4 do NOAEL x 1,8 m².

balho, observou-se uma grande variação de doses calculadas para LASSBio-579. Não foi possível situar as doses calculadas para o derivado em relação aos antipsicóticos do mercado, visto que não há padrão de comportamento comparável entre os métodos. As doses para LASSBio-579 ora foram menores, ora maiores do que os diferentes fármacos. Grandes variações podem ocorrer dependendo da natureza da substância testada, da espécie animal utilizada e do método de cálculo adotado; uma abordagem adequada para uma substância pode não ser adequada para outra. É preciso ainda considerar que os dados pré-clínicos disponíveis para LASSBio-579 são limitados. Por exemplo, os dados de toxicidade derivam de um estudo toxicológico inicial, com dose única ⁸; os parâmetros de eficácia e toxicidade foram arbitrariamente definidos em função dos modelos animais utilizados e dos efeitos adversos considerados limitantes de tratamento na clínica; por fim, o perfil farmacocinético pré-clínico foi determinado somente em ratos ⁶, o que impossibilitou a utilização de métodos farmacocinéticos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Existem diferentes métodos propostos que objetivam a transposição de doses em animais para uma dose inicial e máxima em estudos clínicos fase 1. Porém, não há métodos padronizados que garantam uma dose efetiva e segura, e o que se calcula, por enquanto, são doses suficientemente seguras. Órgãos normativos, como FDA e ICH, consideram principalmente parâmetros pré-clínicos de toxicidade de doses repetidas (NOAEL) e parâmetros farmacocinéticos (ASC). A indústria farmacêutica adota métodos farmacocinéticos, como a determinação do *clearance* em três espécies animais para previsão da farmacocinética em humanos, através de cálculos alométricos ¹².

Cada substância é diferente química e biologicamente e um método que pode estimar corretamente a dose para um fármaco pode não ser adequado para outro. O problema de cada estimativa está principalmente na extrapolação realizada entre espécies diferentes. Por exemplo, a formação de um metabólito tóxico não observada em estudos pré-clínicos pode ocorrer em humanos. Desta forma, a determinação do perfil farmacodinâmico, farmacocinético e toxicológico de um candidato a fármaco, de forma mais completa possível, é fundamental para a estimativa de doses seguras para estudos iniciais em humanos. A escolha adequada dessas doses deve possibilitar, também, a determinação de do-

ses efetivas, nas fases subsequentes, sem um consumo excessivo de tempo e financiamento.

Os estudos de caso apresentados demonstram que a extrapolação de doses de estudos em animais para estudos em humanos representa um desafio em cada situação. A aplicação dos métodos ao derivado *N*-fenilpiperazínico LASSBio-579 ilustra essas dificuldades. Apesar dos diversos estudos farmacodinâmicos e farmacocinéticos publicados, a aplicação dos métodos foi restrita e, em algumas situações, foi necessário trabalhar com inferências. O exercício aqui realizado demonstra que não obstante os estudos pré-clínicos indicarem que LASSBio-579 representa um protótipo de candidato a fármaco antipsicótico, ainda não existem dados que permitam sua avaliação em humanos. São necessários estudos farmacodinâmicos e farmacocinéticos em uma espécie não roedora, além de estudos de toxicidade que possibilitem um cálculo mais preciso de dose para ensaios clínicos fase 1. De toda forma, a estimativa inicial apresentada nesse trabalho poderá contribuir para estudos futuros.

Agradecimentos. Os estudos pré-clínicos aqui citados para LASSBio-579 foram realizados com o apoio do INOFAR- Instituto do Milênio – CNPq, INCT de Fármacos e Medicamentos (INOFARMED), CNPq e Programa PROCAD-CAPES (Brasil).

REFERÊNCIAS

1. Colburn, W.A. & G. Heath (2004) "*Efficient and Effective Drug Development*", in "Applications of Pharmacokinetic Principles in Drug Development", (Krishna, R.) New York: Kluwer Academic / Plenum Publishers, pp. 1-20.
2. Food and Drug Administration (2006) *Guidance for Industry, Investigator, and Reviewers: Exploratory IND Studies*. Disponível em <<http://www.fda.gov/cder/guidance/index.htm>>, [acessado maio de 2008].
3. Williams, M. (2002) "*Drug Design and Development*" in "Foye's Principles of Medicinal Chemistry", (Williams, D.A.; Lemke, T.L.), 5th ed. Philadelphia: Lippincot Williams & Wilkins, pp. 12-23.
4. Kuhlman, J.(1997) *Int. J. Pharmacol. Ther.* **12**: 541-52.
5. Barreiro, E.J., S.M.K. Rates, G. Neves, T.C.T. Dalla-Costa, L. Tasso, C.A.M. Fraga, V.L. Eifler-Lima & R. Menegatti, (2003) "*Novos Derivados N-Fenilpiperazínicos e Composições Farmacêuticas Contendo os Mesmos*" INPI: PI 0303465-8.
6. Conrado, D.J., H. Verli, G. Neves, C.A.M. Fraga, E.J. Barreiro, S.M.K. Rates & T. Dalla Costa (2008) *J. Pharm. Pharmacol.* **60**: 699-707.
7. Menegatti, R., A.C. Cunha, V.F. Ferreira, E.F.

- Perreira, A. El-Nabawi, A.T. Eldefrawi, E.X. Albuquerque, G. Neves, S.M.K. Rates, C.A. Fraga & E.J. Barreiro (2003) *Bioorgan. Med. Chem.* **11**: 4807-13.
8. Neves, G., A.H. Betti, C.B. Antonio, M.A. Pranke, M. Kliemann, L.A. Lacerda, F.H.D. González, D. Driemeier, C.A.M. Fraga, E.J. Barreiro, T. Dalla Costa, F. Noel & S.M.K. Rates (2009) *J. Psychopharm.* (submetido).
 9. Neves, G, R. Fenner, A.P. Heckler, A.F. Viana, L. Tasso, R. Menegatti, C.A.M. Fraga, E.J. Barreiro, T. Dalla Costa & S.M.K. Rates (2003) *Braz. J. Med. Biol. Res.* **36**: 625-9.
 10. Neves, G; M. Kliemann, A.H. Betti, D.J. Conrado, L. Tasso, C.A. Fraga, E.J. Barreiro, T. Dalla Costa & S.M.K. Rates (2008) *Pharmacol. Biochem. Behav.* **89**: 23-30.
 11. Chappel, W.R. & J. Mordenti (1991) *Adverse Drug Res.* **20**: 1-116.
 12. Reigner, B.G. & K.S. Blesch (2002) *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **57**: 835-45.
 13. Food and Drug Administration (2005) "*Guidance for Industry Estimating the Maximum Safe Starting Dose in Initial Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers*". Disponível em <<http://www.fda.gov/cder/guidance/index.htm>>, [acessado junho de 2008].
 14. Lavé, T., O. Luttringer, P. Poulin & N. Parrott (2004) "*Interspecies Scaling*", in: "Applications of Pharmacokinetic Principles in Drug Development", (Krishna, R.) New York, Kluwer Academic / Plenum Publishers, pp. 133-76.
 15. Mahamood, I. (2004) "*Interspecies Pharmacokinetic Scaling: Principles, Applications, and Limitations*", in: "Pharmacokinetics in Drug Development Clinical Study Design and Analysis", (Bonate, P., D. Howard), Arlington, VA: AAPS Press, v.1, pp. 423-444.
 16. Posvar, E.L. & Sedman A.J. (1989) *J. Clin. Pharmacol.* **29**: 961-6.
 17. ICH Harmonised Tripartite Guideline (2008)