

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ – FIOCRUZ
INSTITUTO DE TECNOLOGIA EM FÁRMACOS – FARMANGUINHOS

Paula Gomes dos Santos

**Avaliação do potencial terapêutico do limoneno e derivados perílicos como
agentes anticâncer**

Rio de Janeiro

2018

Paula Gomes dos Santos

Avaliação do potencial terapêutico do limoneno e derivados perílicos como agentes anticâncer

Dissertação submetida ao corpo docente do Curso de Mestrado Profissional em Gestão, Pesquisa e Desenvolvimento na Indústria Farmacêutica, de Farmanguinhos da Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Ciências.

Orientador: Dr. Antonio Carlos Siani

Coorientadora: Dr^a Maria Antonieta Ferrara

Rio de Janeiro

2018

Ficha catalográfica elaborada pela
Biblioteca de Medicamentos e Fitomedicamentos/ Farmanguinhos / FIOCRUZ - RJ

S237a Santos, Paula Gomes dos

Avaliação do potencial terapêutico do limoneno e derivados perílicos como agentes anticâncer. / Paula Gomes dos Santos. – Rio de Janeiro, 2018.

xvi, 126 f. : il. ; 30 cm.

Orientadores: Antonio Carlos Siani e Maria Antonieta Ferrara

Dissertação (mestrado) – Instituto de Tecnologia em Fármacos-Farmanguinhos, Pós-graduação em Gestão, Pesquisa e Desenvolvimento na Indústria Farmacêutica, 2018.

Bibliografia: f. 95-103

1. Revisão Sistemática. 2. Câncer. 3. Limoneno. 4. Álcool Perílico. 5. Ácido Perílico. 6. Perilaldeído. I. Título.

CDD 615.1

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese/dissertação, desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

Paula Gomes dos Santos

Avaliação do potencial terapêutico do limoneno e derivados perílicos como agentes anticâncer

Dissertação apresentada, como um dos requisitos para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-graduação em Gestão, Pesquisa e Desenvolvimento na Indústria Farmacêutica, do Instituto de Tecnologia em Fármacos – Fundação Oswaldo Cruz

Aprovada em 27 de fevereiro de 2018.

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Antonio Carlos Siani
Instituto de Tecnologia em Fármacos – FIOCRUZ (orientador)

Prof^a. Dr^a. Maria Antonieta Ferrara
Instituto de Tecnologia em Fármacos – FIOCRUZ (Co-orientador)

Prof^a. Dr^a. Wanise Borges Gouvea Barroso
Instituto de Tecnologia em Fármacos – FIOCRUZ

Prof^a. Dr^a. María Hermoso Cristóbal
Vice-presidência de Pesquisa e Laboratórios de Referência – FIOCRUZ

Prof. Dr. Adriano Arnóbio José da Silva e Silva
Cochrane Methods IPD Meta-analysis

Rio de Janeiro

2018

Dedico este trabalho à Paulo Roberto,
Vânia, Juliana, Thor e Tazz – minha família,
sem os quais nada seria possível.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus por ter conseguido chegar até aqui, por muitas vezes vacilei, mas Ele não me permitiu desistir. Agradeço à São Miguel Arcanjo pela vitória no combate.

Agradeço também ao meu orientador Dr Antonio Carlos Siani por ter me apoiado, incentivado e acreditado em mim e a minha co-orientadora Dr Maria Antonieta por aceitar me orientar mesmo sem me conhecer.

Ao Dr Francisco Paumgarten, muito obrigada por despender de seu tempo para me ajudar a realizar esta revisão sistemática.

Obrigada aos Doutores Adriano Arnóbio, Maria Hermoso e Wanise Barroso por aceitarem fazer parte da banca.

Obrigada aos meus pais por todo o apoio que sempre me deram e por terem me incentivado a estudar durante toda a minha vida.

Aos amigos do mestrado Gabrielle Neves e Victor Oliveira, obrigada pela parceria e apoio durante toda a jornada.

A turma do mestrado 2017, obrigada por ter me acolhido e me incluído na turma, principalmente o eixo de Pesquisa.

Agradeço à Fundação para o Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Saúde (FIOTEC), pelo apoio financeiro e à todos os professores do programa de Pós-graduação em Gestão, Pesquisa e Desenvolvimento na Indústria Farmacêutica do Instituto de Tecnologia em Fármacos (Farmanguinhos) pelo aprendizado ao longo desses dois anos.

A ciência progride de duas maneiras:
adicionando fatos novos ou simplificando os
existentes.

(Claude Bernard)

RESUMO

SANTOS, Paula Gomes. *Avaliação do potencial terapêutico do limoneno e derivados perílicos com agentes anticâncer*. 2018. 126f. Dissertação Mestrado Profissional em Gestão, Pesquisa e Desenvolvimento na Indústria Farmacêutica – Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2018.

O câncer está entre as principais causas de morte no mundo, isso o caracteriza como um importante problema de saúde pública. Atenta a esta demanda, a Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) desenvolve um projeto de antineoplásico com um derivado perílico solúvel do limoneno. O objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão sistemática de ensaios clínicos sobre a eficácia, a segurança e a tolerabilidade do uso do limoneno, álcool perílico (POH), ácido perílico (POOH) e perilaldeído (PAH) como agentes anticâncer, visando subsidiar as tomadas de decisão daquele projeto. A pergunta da pesquisa clínica construída a partir da estratégia PICOS-T, foi “qual é a evidência em humanos que o limoneno, álcool perílico, ácido perílico e perilaldeído são um tratamento efetivos e seguro para câncer (qualquer tipo) e lesão pré-cancerosa?”. A metodologia para a execução desta revisão sistemática seguiu as orientações da Colaboração Cochrane. A busca nas bases de dados ocorreu em 23/11/2018 e utilizou 8 bases de dados (PubMed, Embase, Scopus, OVID, Web of Science, The Cochrane Library, Integrity e SciFinder), 1 biblioteca virtual (SciELO) e 4 bancos de registro de ensaios clínicos (*clinicaltrials.gov*, ICTRP, NCI e ReBEC). Foram obtidos 2533 referências para o limoneno, 1383 para o POH e POOH e 65 para o PAH. Após as triagens verificou-se que não havia ensaios clínicos para o PAH e POOH. Foram selecionados para a revisão sistemática 20 ensaios clínicos para o POH e 1 para o limoneno. Três ensaios clínicos do POH só tiveram analisados seus desfechos de segurança. Não foram encontrados ensaios clínicos de fase III, apenas de fase I e II, tanto para o limoneno quanto o POH. As vias de administração utilizadas para o POH foram via inalatória (5 estudos), oral (13 estudos) e via tópica (2) e para o limoneno, a via oral. Como os ensaios estudaram cânceres diferentes não foi possível comparar os resultados entre eles, mas é possível constatar que alguns pacientes obtiveram estabilização da doença por alguns meses, 1 paciente de 1 estudo obteve resposta objetiva por quase 2 anos, mas o resultado potencialmente mais promissor foi a administração intraneural de POH para tratar glioblastoma. No estudo com o limoneno houve uma paciente que apresentou resposta parcial mantida por 11 meses. Os principais efeitos adversos relatados foram gastrointestinais tanto para o limoneno quanto para o POH, entretanto o POH não foi bem tolerado pelos pacientes, provavelmente relacionado ao número excessivo de cápsulas ingeridas por dose (30). Apenas dois ensaios clínicos eram randomizados, controlados e cegos (POH por via tópica). Todos os ensaios clínicos apresentaram um nível de viés alto, devido a isso as informações deles obtidas devem ser vistas com cautela. Como não foi encontrado ensaios de fase III, não foram encontradas evidências que sustentem o uso do limoneno, POH, POOH e PAH para tratar o câncer ou lesões pré-cancerosas.

Palavras-chave: Revisão Sistemática. Câncer. Limoneno. Álcool perílico. Ácido perílico. Perilaldeído.

ABSTRACT

Cancer is among the leading causes of death in the world, which characterizes as an important public health problem. Aware of this demand, the Oswaldo Cruz Foundation (FIOCRUZ) develops an antineoplastic project with a soluble perillyl derivative of limonene. The objective of this study was to conduct a systematic review of clinical trials on the efficacy, safety and tolerability of limonene, perillyl alcohol (POH), perillylic acid (POOH) and perillylaldehyde (PAH) as anticancer agents, in order to subsidize the intakes of that project. The question of clinical research built on the PICOS-T strategy was "What is the evidence in humans that limonene, perillyl alcohol, perillylaldehyde and perillylaldehyde are an effective and safe treatment for cancer (any type) and precancerous lesion?". The methodology for the execution of this systematic review followed the guidelines of the Cochrane Collaboration. The search in the databases occurred on 11/23/2018 and used 8 databases (PubMed, Embase, Scopus, OVID, Web of Science, The Cochrane Library, Integrity and SciFinder), 1 virtual library (SciELO) and 4 register databases of clinical trials (clinicaltrials.gov, ICTRP, NCI and ReBEC). 2533 references were obtained for limonene, 1383 for POH and POOH and 65 for PAH. After screening, it was found that there were no clinical trials for PAH and POOH. Twenty clinical trials for POH and 1 for limonene were selected for the systematic review. Three clinical trials from the POH had only analyzed their safety outcomes. No clinical trials of phase III, only phase I and II, were found for both limonene and POH. The routes of administration used for the POH were via inhalation (5 studies), oral (13 studies) and topical (2) and oral for limonene. As the trials studied different cancers it was not possible to compare the results between them, but it is possible to verify that some patients obtained stabilization of the disease for some months, 1 patient of 1 study got an objective response for almost 2 years, but the potentially more promising result was the intranasal administration of POH to treat glioblastoma. In the study with limonene there was a patient who presented partial response maintained for 11 months. The main adverse effects reported were gastrointestinal for both limonene and POH, however POH was not well tolerated by patients, probably related to the excessive number of capsules ingested per dose (30). Only two clinical trials were randomized, controlled and blinded (POH by topical route). All the clinical trials presented a high bias level, due to which the information obtained from them should be viewed with caution. As no phase III trials were found, no evidence was found to support the use of limonene, POH, POOH, and PAH to treat cancer or precancerous lesions.

Key-words: Systematic Review. Cancer. Limonene. Perillyl Alcohol. Perillylic Acid. Perillylaldehyde

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estimativa de casos novos de câncer no Brasil em 2016.	4
Figura 2 – O processo de carcinogênese	5
Figura 3 – Estrutura química do Limoneno e três de seus derivados períficos.	10
Figura 4 – Esquema simplificado da metabolização do limoneno	11
Figura 5 – Esquematização dos estudos envolvidos para desenvolvimento de um novo medicamento.....	15
Figura 6 – Classificação dos desfechos utilizados em ensaios clínicos	19
Figura 7 – Pirâmide do nível de evidência de artigos da área de saúde: investigações com uma posição mais superior possuem nível de evidência maior.....	25
Figura 8 – Descrição geral sobre o processo de revisão sistemática da literatura.....	28
Figura 9 – Roteiro metodológico utilizado na execução deste estudo.	34
Figura 10 – Acrônimo PICOS-T aplicado ao tema deste trabalho.	35
Figura 11 – Porcentagem de artigos obtidos em cada banco de dados ou biblioteca virtual (tabela 6, metodologia subitem 5.4.1) por meio das estratégias de buscas descritas no subitem 5.5 da metodologia.	46
Figura 12 – Fluxograma da triagem dos ensaios clínicos para a revisão sistemática do limoneno.	48
Figura 13 – Fluxograma da triagem dos ensaios clínicos para a revisão sistemática do POH.	49
Figura 14 – Fluxograma da triagem dos ensaios clínicos para a revisão sistemática do PAH.	49

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Síntese de dados básicos sobre os estudos clínicos desta revisão sistemática.....	60
Quadro 2 – Síntese dos estudos clínicos escolhidos para o POH.....	68
Quadro 3 – Sumário dos dados sobre os efeitos adversos extraídos dos estudos clínicos escolhido para a revisão sistemática do POH e limoneno por via oral.....	77
Quadro 4 - Sumário dos dados sobre os efeitos adversos extraídos dos estudos clínicos escolhido para a revisão sistemática do POH e por via tópica.	79
Quadro 5 - Resultados da atualização das buscas de patentes nas bases <i>SciFinder</i> e <i>Integrity</i>	89

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Principais grupos de câncer	6
Tabela 2 - Alguns exemplos de quimioterápicos disponíveis por via oral nos EUA	8
Tabela 3 - Tipos de mascaramento utilizados em ensaios clínicos	16
Tabela 4 - Tipos de controle nos ensaios clínicos	17
Tabela 5 - Definição dos principais desfechos para medicamentos oncológicos conforme Guia da Anvisa 03	20
Tabela 6 - Base de dados e bibliotecas virtuais utilizados nas buscas da Revisão Sistemática	37
Tabela 7 - Lista de bancos de registros de ensaios clínicos nacionais e internacionais	37
Tabela 8 - Estudos clínicos registrados para o limoneno, álcool perfílico nos bancos de registros oficiais nacionais e internacionais	51
Tabela 9 - Descrição dos estudos clínicos registrados nas bases de registros da metodologia subitem 5.4.1	54
Tabela 10 - Listagem dos artigos selecionados para revisão sistemática.	57
Tabela 11 - Descrição dos desfechos de eficácia dos estudos elencados para a revisão sistemática	65
Tabela 12 - Análise da qualidade dos 21 estudos elegíveis para revisão sistemática.	81
Tabela 13 - Projetos da NEONC Technologies catalogados no <i>Integrity</i>	87

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA	Astrocitoma
ADN	Ácido Desoxirribonucleico
ANC	<i>Absolute Neutrophil Count</i>
ANVISA	Agência Nacional De Vigilância Sanitária
AO	Oligodendrioglioma
ARN	Ácido Ribonucleico
BAK	<i>Bcl-2 Homologous Antagonist/Killer</i>
BAX	<i>Bcl-2-Associated X Protein</i>
BCL-2	<i>B-Cell Lymphoma-2</i>
BIREME	Biblioteca Regional de Medicina
CAS	<i>Chemical Abstracts Service</i>
CEP	Comitê De Ética Em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos
CNS	Conselho Nacional de Saúde
COMUT	Programa de Comutação Bibliográfica
CONEP	Conselho Nacional de Ética Em Pesquisa
CONITEC	Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no Sistema Único de Saúde
CRO	<i>Clinical Research Organizations</i>
CTCAE	<i>Common Terminology Criteria for Adverse Events</i>
CYP	citocromo
DECIT	Departamento De Ciência E Tecnologia
ECCR	Ensaio Clínicos Controlados E Randomizados
EGF	<i>Epidermal Growth Factor</i>
EIF4E	<i>Eukaryotic Translation Initiation Factor 4e</i>
ERK	<i>Extracellular Signal-Regulated Kinase</i>
EUA	Estados Unidos da América
FASL	Fas- Ligant
FDA	<i>U. S. Food And Drug Administration</i>
FDAMA	<i>Food And Drug Administration Modernization Act</i>
FEMA	<i>Federal Emergency Management Agency</i>
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
FTASE	<i>Farnesyl Transferase</i>
GBM	Glioblastoma
GCP	<i>Good Clinical Practice</i>
GCP-ICH	<i>Good Clinical Practice-International Conference on Harmonisation</i>
GDP	<i>Guanosina Difosfato</i>
GEPEC	Gerência de Medicamentos Novos, Pesquisa e Ensaio Clínicos
GESTEC	Coordenação de Gestão Tecnológica
GRAS	<i>Generally Recognized As Safe</i>
GSK	<i>Glycogen Synthase Kinase</i>
HEMORIO	Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti
HTERT	<i>Human Telomerase Reverse Transcriptase</i>
i.v.	intravenosa
IARC	<i>International Agency for Research on Cancer</i>

ICH	<i>International Conference on Harmonisation</i>
ICICT	Instituto de Comunicação e Informação Científica e Tecnológica em Saúde
ICMJE	<i>International Committee Of Medical Journal Editors</i>
ICTRP	<i>International Clinical Trials Registry Platform</i>
IGF	<i>Insulin-Like Growth Factor</i>
INCA	Instituto Nacional De Câncer
INPI	Instituto Nacional de Propriedade Intelectual
ISRCTN	<i>International Standard Randomized Controlled Trial Number</i>
IUPAC	<i>International Union Of Pure And Applied Chemistry</i>
LILACS	Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde
M6P	<i>Mannose-6-Phosphate</i>
M6P/IGF	<i>Mannose-6-Phosphate/Insulin-Like Growth Factor</i>
MBE	Medicina Baseada em Evidências
MDT	Máxima Dose Tolerada
MEK	<i>Mitogen/Extracellular Signal-Regulated Kinase</i>
MS	Ministério da Saúde
MTOR	<i>Mechanistic Target of Rapamycin</i>
NCI	<i>National Cancer Institute</i>
NIH	<i>National Institutes Of Health</i>
NLM	<i>NIH National Library Of Medicine</i>
OMS	Organização Mundial da Saúde
OPAS	Organização Pan-Americana De Saúde
ORPC	Organizações Representativas De Pesquisa Clínica
P&D	Pesquisa & Desenvolvimento
PAH	perilaldeído
PARP	<i>Poliadp-Ribose Polimerase</i>
P-gp	Glicoproteína P
POH	Álcool Perílico
POOH	Ácido Perílico
PRISMA	<i>Preferred Reporting Items of Systematic Reviews and Meta-Analyses</i>
qid	<i>quater in die</i>
QoL	Qualidade de Vida
QUOROM	<i>Quality of Reporting of Meta-Analyses</i>
RAS	<i>Rat Sarcoma Viral Oncogene Homolog</i>
RCERT	<i>Randomized Comparative Effectiveness Research Trial</i>
RDC	Resolução Da Diretoria Colegiada
REBEC	Registro Brasileiro De Ensaio Clínicos
RO	Resposta Objetiva
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
SCB	Sistema de Classificação Biofarmacêutica
SciELO	<i>Scientific Electronic Library Online</i>
SCTIE	Secretaria De Ciência, Tecnologia E Insumos Estratégicos
SG	Sobrevida Global
SLD	Sobrevida livre de doença
SLP	Sobrevida livre de progressão
SNC	Sistema Nervoso Central
SUS	Sistema único de Saúde
TGF- β	<i>Transforming Growth Factor β</i>

TRO	Taxa de Resposta Objetiva
TTP	Tempo até progressão da doença
UFF	Universidade Federal Fluminense
VEGF	<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
VEGFR1	<i>Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-1</i>
WHO	<i>World Health Organization</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1	CÂNCER: UM PROBLEMA DE SAÚDE PÚBLICA	4
2.1.1	Antineoplásicos de origem natural	8
2.2	POTENCIAL ANTINEOPLÁSICO DO LIMONENO E SEUS DERIVADOS PERÍLICOS: ÁLCOOL PERÍLICO, ÁCIDO PERÍLICO E PERILALDEÍDO	9
2.3	ENSAIOS CLÍNICOS: ASPECTOS BÁSICOS	13
2.3.1	Registros de ensaios clínicos	20
2.3.2	A Pesquisa Clínica em números	22
2.4	REVISÃO DE SISTEMÁTICA E META-ANÁLISE COMO FERRAMENTAS EM PROCESSOS DECISÓRIOS	23
3	JUSTIFICATIVA	30
4	OBJETIVOS	32
4.1	OBJETIVO GERAL	32
4.1.1	<i>Objetivos Específicos</i>	32
5	METODOLOGIA	33
5.1	ROTEIRO METODOLÓGICO	33
5.2	INDAGAÇÃO DA PESQUISA	35
5.3	DELINEAMENTO DA PESQUISA	36
5.3.1.	Critérios de Inclusão	36
5.3.2.	Critérios de exclusão	36
5.4	ESCOLHA DAS BASES DE DADOS PARA BUSCA	36
5.4.1.	Estudos Publicados	36
5.4.2.	Estudos não publicados	37
5.5	DEFINIÇÃO DA ESTRATÉGIA DE BUSCA	38
5.6	SELEÇÃO DOS ESTUDOS PARA A REVISÃO SISTEMÁTICA	38
5.7	EXTRAÇÃO DOS DADOS DOS ESTUDOS ESCOLHIDOS PARA A REVISÃO SISTEMÁTICA	39
5.8	AVALIAÇÃO DE QUALIDADE DOS ESTUDOS E DO RELATO	40
5.9	BUSCA DE INFORMAÇÕES SOBRE MEDICAMENTOS CONTENDO DERIVADOS PERÍLICOS	41
5.10	BUSCA DE PATENTES COM O LIMONENO E SEUS DERIVADOS PERÍLICOS	

6	RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
6.1	ELABORAÇÃO DA PERGUNTA E DO DELINEAMENTO DO ESTUDO DESTA REVISÃO SISTEMÁTICA	43
6.2	BUSCA PELOS ESTUDOS CLÍNICOS DO LIMONENO, ÁLCOOL PERÍLICO, ÁCIDO PERÍLICO E PERILALDEÍDO	45
6.3	TRIAGEM DOS ARTIGOS A SEREM UTILIZADOS NA REVISÃO SISTEMÁTICA	47
6.3.1.	Artigos publicados obtidos em buscas nas bases de dados e biblioteca virtual (metodologia subitem 5.4.1) com as estratégias descritas (metodologia item 5.5)	47
6.3.1.1.Seleção dos artigos do estudo da administração intranasal do POH para câncer no cérebro	50
6.3.2.	Estudos obtidos através das buscas na base de registros de ensaios clínicos (metodologia 5.4.2)	50
6.4	DESCRIÇÃO DOS ARTIGOS SELECIONADOS PARA A REVISÃO SISTEMÁTICA	57
6.5	DESCRIÇÃO DOS DESFECHOS DE EFICÁCIA	66
6.6	DESCRIÇÃO DOS DESFECHOS DE SEGURANÇA	75
6.7.	ANÁLISE DA QUALIDADE DOS ESTUDOS E DOS RELATOS	80
6.8.	RELEVÂNCIA DA REVISÃO SISTEMÁTICA PARA O CONTEXTO ATUAL	83
6.9.	LIMITAÇÕES DESTA REVISÃO SISTEMÁTICA	84
6.10.	CENÁRIO ATUAL DE PESQUISA E DESENVOLVIMENTO PARA MEDICAMENTOS COM LIMONENO, ÁLCOOL PERÍLICO, ÁCIDO PERÍLICO E PERILALDEÍDO	86
6.11.	ATUALIZAÇÃO DAS PATENTES SOBRE O LIMONENO, ÁLCOOL PERÍLICO, ÁCIDO PERÍLICO E PERILALDEÍDO	88
7.	CONCLUSÃO	92
8.	PERSPECTIVAS FUTURAS	94
9.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	95
	APÊNDICE A	104
	APÊNDICE B	108
	APÊNDICE C	113
	APÊNDICE D	114
	ANEXO 1	117
	ANEXO 2	118
	ANEXO 3	120
	ANEXO 4	123
	ANEXO 5	126

1 INTRODUÇÃO

O câncer é uma das doenças que mais causam temor na sociedade, por ter se tornado um estigma de mortalidade e dor (ALMEIDA *et al.*, 2005). O câncer está entre as principais causas de morte no mundo sendo responsável por mais de 12% de todas as causas de óbito e, segundo a *International Union Against Cancer*, mais de 7 milhões de pessoas morrem anualmente da doença (INCA, 2006). Em 2012, o *International Agency for Research on Cancer* (IARC) registrou 8.201.575 mortes por câncer no mundo (IARC, 2018). Associado ônus dos custos dos tratamentos, isso caracteriza o câncer como um importante desafio de saúde pública.

Essa preocupação tem permeado as instituições brasileiras no que se refere à diminuição dos custos de tratamento e, principalmente, à disponibilização de medicamentos antineoplásicos. Este é o caso da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), que recentemente criou em 2015 a Rede Fio-Câncer¹, que tem como objetivo central “viabilizar a geração/produção de conhecimento, medicamentos, terapias e kits diagnósticos/prognósticos para o câncer”, de maneira a instrumentalizar o Sistema Único de Saúde (SUS). A proposta de reunir os esforços institucionais com o máximo de sinergismo possível visa mitigar de alguma forma o problema social e econômico acarretado pelos 600 mil novos casos de câncer/ano no Brasil, com perspectiva de crescimento em 38% até 2020 (INCA, 2006).

Em sua vertente de busca de novos medicamentos antineoplásicos, consta no portfólio da FIOCRUZ o projeto “*Bioconversão de terpenos para a obtenção de agentes anticâncer*”, desenvolvido no Instituto de Tecnologia em Fármacos (Farmanguinhos) com parceria do Instituto de Química/UFRJ. O principal objetivo deste projeto é desenvolver e disponibilizar um novo fármaco com atividade antitumoral, com base em sais perilatos, contribuindo para abaixar o custo de tratamento de vários tipos de câncer. Estes compostos têm sido sintetizados nos laboratórios de pesquisa de Farmanguinhos por via da biotransformação de uma substância de origem natural, o limoneno, utilizando a ação de uma levedura específica.

O limoneno é uma substância de origem natural, pertencente à classe química dos monoterpenos, que está presente em abundância na casca de frutos cítricos (VIGUSHIN *et al.*, 1998). Por isso, pode ser obtido, com custo relativamente baixo, a partir de subprodutos da indústria de alimentos - que é especialmente relevante no Brasil. No processo desenvolvido

¹ <https://portal.fiocruz.br/pt-br/content/1o-simposio-fio-cancer-articula-grupos-de-pesquisa-da-fiocruz>

em Farmanguinhos, o limoneno é convertido no ácido perílico, que é então transformado no sal perilato de sódio.

Os resultados obtidos com a ação do perilato de sódio em células cancerígenas atualmente compõem uma solicitação de patente nacional, cujo pedido foi estendido em várias repartições internacionais (Estados Unidos, China e alguns países da Europa).

Os derivados perílicos têm sido explorados como agentes anticâncer, com ensaios clínicos em curso atualmente com o álcool perílico e, em menor escala, com o limoneno. A terapia mais bem-sucedida refere-se à administração nasal do álcool perílico em pacientes com glioblastoma recorrente (BATHAIE & TAMANOI, 2014; DA FONSECA *et al.*, 2008a). O pressuposto do ácido perílico (portanto, o sal perilato) também possuir atividade anticâncer surgiu a partir da constatação de sua presença no plasma humano após administração do limoneno (CHOW *et al.*, 2002) ou do álcool perílico (HUDES *et al.*, 2000); considerando-se o mecanismo aceito para esses monoterpenos como inibidores do processo bioquímico que envolve a sinalização intracelular para multiplicação das células cancerosas (GELB *et al.*, 1995). Em conformidade com esta assertiva, o ácido perílico demonstrou ser eficaz numa gama de ensaios antitumorais *in vitro* (YERUVA *et al.*, 2007).

Na Fiocruz, o ‘projeto perilato’ encontra-se num ponto em que existe a premência do reforço de sua prova de conceito, como agente citotóxico e possivelmente antimetastático. Neste contexto, para sua inserção na Rede Fio-Câncer, há a necessidade de se elaborar um dossiê, o mais completo possível, sobre a farmacologia pré-clínica e clínicas dos derivados perílicos em geral, com especial foco nos estudos clínicos já finalizados ou em andamento com esses candidatos a fármacos.

O claro estabelecimento do atual estágio nas pesquisas clínicas com os derivados perílicos e o limoneno, com o suporte de uma compilação criteriosa e protocolar da literatura científica e médica, é essencial para consolidar a base racional do projeto em curso, assim como para instrumentalizar a argumentação dos seus gestores no competitivo cenário do desenvolvimento de novas drogas antineoplásicas.

Para alcançar este objetivo, o presente estudo propõe uma revisão sistemática sobre os estudos clínicos demonstradas pelo limoneno e três de seus derivados perílicos. A Revisão Sistemática é uma ferramenta que vêm sendo amplamente utilizada como suporte de evidência confiável, no sentido de endossar decisões na prática clínica; considerada bastante útil na área de gestão para tomada de decisão (GOMES *et al.*, 2012).

Esta abordagem está apoiada por considerações resumidas sobre o câncer e sua medicação, considerando os impactos dos tratamentos oncológicos na saúde pública; além de

breve detalhamento da pesquisa clínica com fármacos oncológicos, a natureza das moléculas do grupo perfílico e o potencial que possuem como candidatos fármacos.

Assim, esta proposta se inicia com a indagação-chave de uma revisão sistemática, que já é delineada para se atingirem os objetivos da compilação informacional que se seguirá, seguida das buscas – mais completas possíveis – em bases de dados gerais, com estratégia definida. Em seguida, proceder-se-á à triagem dos artigos levantados, considerando critérios básicos de inclusão e exclusão. Os estudos selecionados para a revisão sistemática serão caracterizados segundo os tipos de estudo, com avaliação dos desfechos baseados em eficácia e segurança. Esta avaliação será a base para apontar possíveis falhas no desenho escolhido para o estudo (formulação utilizada, número de pacientes, etc.).

O estudo se concluirá com uma avaliação do impacto da revisão sistemática realizada sobre o cenário atual dos derivados perfílicos no tratamento de cânceres; assim como as limitações que a ferramenta apresentou nesse caso específico.

Por fim, será traçado um breve panorama do estado da arte quanto à existência de medicamentos quimioterápicos para cânceres, e quanto ao status patentário de produtos com este potencial; lembrando que o objetivo precípua desta proposta é que os resultados apresentados possam agregar conhecimento e consistência ao percurso do ‘projeto perilato’, atualmente em andamento na instituição.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 CÂNCER: UM PROBLEMA DE SAÚDE PÚBLICA

O câncer tornou-se uma das doenças mais preocupantes e uma das principais causas de sofrimento humano e morte (ALI *et al.*, 2012). Em 2012, houve 14 milhões de novos casos dessa doença no mundo e 8,2 milhões de mortes relacionadas a ela. Estima-se que atualmente exista 20 milhões de pessoas no mundo acometidas com câncer e espera-se para 2030, 27 milhões de casos novos de câncer no mundo (INCA, 2015). Esta doença constitui um problema de saúde pública, principalmente para nações em desenvolvimento, onde a soma de casos novos diagnosticados a cada ano atinge 50% do total observado nos cinco continentes (ALI *et al.*, 2012).

No Brasil, o Instituto Nacional de Câncer (INCA) estimou para o biênio 2018-2019, 640 mil novos casos de câncer para cada ano, dos quais 272.610 localizados na região sudeste (INCA, 2017). O câncer é a segunda maior causa de óbitos, com cerca de 190 mil ao ano (INCA, 2016). O Brasil possui os cânceres de próstata, pulmão, mama feminina e cólon e reto entre os mais incidentes, entretanto ainda apresenta altas taxas para os cânceres do colo do útero, estômago e esôfago (INCA, 2017). A figura 1 traz um *ranking* dos principais tipos de câncer (localização primária) distribuídos por gênero.

Localização Primária	Casos	%			Localização Primária	Casos	%
Próstata	68.220	31,7%		Homens Mulheres	Mama Feminina	59.700	29,5%
Traqueia, Brônquio e Pulmão	18.740	8,7%			Cólon e Reto	18.980	9,4%
Cólon e Reto	17.380	8,1%			Colo do Útero	16.370	8,1%
Estômago	13.540	6,3%			Traqueia, Brônquio e Pulmão	12.530	6,2%
Cavidade Oral	11.200	5,2%			Glândula Tireoide	8.040	4,0%
Esôfago	8.240	3,8%			Estômago	7.750	3,8%
Bexiga	6.690	3,1%			Corpo do Útero	6.600	3,3%
Laringe	6.390	3,0%			Ovário	6.150	3,0%
Leucemias	5.940	2,8%			Sistema Nervoso Central	5.510	2,7%
Sistema Nervoso Central	5.810	2,7%			Leucemias	4.860	2,4%

Figura 1 – Estimativa de casos novos de câncer no Brasil em 2018.
Fonte: INCA (2017).

De acordo com o INCA, câncer é o nome dado a um conjunto de mais de 100 doenças que têm em comum o crescimento desordenado (maligno) de células que invadem os tecidos e órgãos, podendo se espalhar (metástase) para outras regiões do corpo. É causada por mutações genéticas que conferem às células algumas características especiais, como capacidade ilimitada de proliferação, perda de respostas a fatores de inibição de crescimento, evasão de apoptose (morte celular programada), capacidade de invadir outros tecidos (metástases) e

produção de novos vasos sanguíneos (angiogênese). Esse processo invasivo decorrente da transformação celular ocorre em resposta a distúrbios genéticos provocados por mutações ou ampliações de alguns genes que codificam proteínas capazes de controlar a proliferação e divisão celular (COSTA, 2012; MARTINEZ *et al.*, 2006; SERRANO *et al.*, 2014).

O processo de carcinogênese (formação do câncer) geralmente é lento, podendo levar anos para que o tumor seja detectável. Esse processo compreende vários estágios, conforme descritos na figura 2.

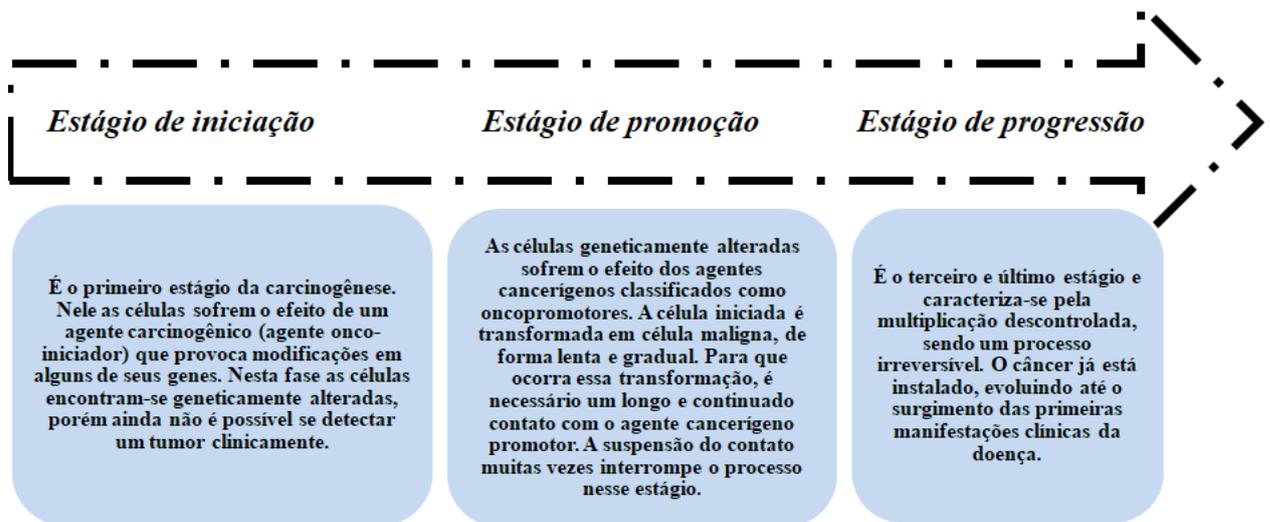


Figura 2 – O processo de carcinogênese
Fonte: Adaptado de ALMEIDA e colaboradores (2005).

Cada câncer tem seu próprio padrão de comportamento, determinado pelo tecido em que foi formado, pelas mutações que as células adotaram e pela química no corpo do indivíduo. Como cada câncer é único, um tratamento eficaz para um paciente com leucemia, por exemplo, pode fazer pouco ou nada para uma mulher com câncer de mama. Mesmo os pacientes que têm o mesmo tipo de câncer responderão diferentemente à terapias idênticas, porque a forma como o câncer surge e atua depende de eventos celulares únicos e do genoma individual do paciente (YADAV *et al.*, 2014). O câncer é nomeado segundo o tipo de célula normal que o originou. A tabela 1 descreve os principais grupos de câncer.

Tabela 1 - Principais grupos de câncer

Carcinomas	São os tipos mais comuns de câncer, originando-se de células que revestem o corpo, incluindo a pele (ectodermis) e uma série de revestimentos internos (endodermis), como os da boca, garganta, brônquios, esôfago, estômago, intestino, bexiga, útero e ovários, e os revestimentos dos dutos mamários, próstata e pâncreas. Há também os carcinosarcomas, tumores geralmente de alta malignidade, derivados de dois tipos de tecidos embrionários e os teratomas, derivados de três tipos de tecidos embrionários.
Sarcomas	Originam-se de tecidos de suporte em vez dos de revestimento, tais como ossos, tecido gorduroso, músculo e tecido fibroso de reforço, encontrados na maior parte do corpo.
Linfomas	Originam-se de células conhecidas como linfócitos, encontradas em todo o organismo, particularmente em glândulas linfáticas e sangue. Os linfomas são divididos em Hodgkin e não-Hodgkin, de acordo com o tipo de célula afetada.
Leucemia	Este câncer origina-se de células da medula óssea que produzem as células sanguíneas brancas. Na leucemia ocorre uma concentração muito elevada de glóbulos brancos (de cerca de $7,5 \cdot 10^3/\text{mm}^3$ para 10^5 - $10^6/\text{mm}^3$) causando problemas nos quais as células mutadas não funcionam apropriadamente, além de restringirem o espaço da medula óssea para que novas células sejam produzidas.
Mielomas	Malignidades nas células plasmáticas da medula óssea que produzem os anticorpos.
Tumores das células germinativas	Desenvolvem-se a partir de células dos testículos e/ou dos ovários, responsáveis pela produção de espermatozoides e óvulos.
Melanomas	Originam-se das células da pele que produzem os pigmentos melanócitos.
Gliomas	Originam-se a partir de células do tecido de suporte cerebral ou da medula espinhal. Raramente ocorre metástase.
Neuroblastomas	Tumor geralmente pediátrico (8 milhões de crianças até 15 anos de idade por ano; 80% dos casos com até 4 anos de idade) derivado de células malignas embrionárias advindas de células neuronais primordiais, desde gânglios simpáticos até medula adrenal e outros pontos.

Fonte: Adaptado de ALMEIDA e colaboradores (2005).

O caráter multifatorial do câncer, associado ao ainda escasso entendimento da sua fisiopatologia, geram um cenário em que as abordagens terapêuticas estão em constante renovação e revisão. Atualmente há várias modalidades de tratamento do câncer, entre elas a

cirurgia, a radioterapia e o tratamento medicamentoso, que engloba os medicamentos antineoplásicos, hormonioterapia, imunoterapia e uso de bloqueadores enzimáticos (COSTA, 2012).

A utilização de drogas citotóxicas para tratamento de câncer se tornou rotina a partir da década de 1950, aumentando a sobrevivência de pacientes acometidos por certos tipos de tumores (PINTO e KIKUCHI, 2005). A introdução da mostarda nitrogenada, como antineoplásico, em 1948, pode ser considerada o início da era moderna da quimioterapia. A descoberta de seu efeito mielodepressor ocorreu por acaso durante a 2ª guerra mundial e é considerado o primeiro passo para a compreensão de que o câncer pode ser tratado com agentes farmacológicos (COSTA, 2012).

O objetivo primário da quimioterapia é destruir as células neoplásicas, preservando as normais. Entretanto, a maioria dos agentes quimioterápicos atua de forma não-específica, lesando tanto células malignas quanto normais, particularmente as células de rápido crescimento, como as gastrointestinais, capilares e as do sistema imunológico. Isto explica a maior parte dos efeitos colaterais da quimioterapia, como náuseas, perda de cabelo e susceptibilidade maior às infecções (ALMEIDA *et al.*, 2005).

A maioria dos medicamentos anticancerígenos comercializados atualmente está disponível como formulação intravenosa (i.v). Mais de vinte medicamentos já estão disponíveis para apresentação oral, conforme ilustra a tabela 2; com mais 5 ainda em fase de estudo (YADAV *et al.*, 2014). Atualmente, 10% da quimioterapia contra câncer é fornecida aos pacientes como uma formulação oral, mas a *National Comprehensive Cancer Network* prevê que, até 2013, essa porcentagem vá para 25% (MAZZEFERRO *et al.*, 2012).

No entanto, deve-se notar que muitos fármacos contra o câncer pertencem à classe IV do Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB), que compreende substâncias com baixa solubilidade em fluídos aquosos e baixa permeabilidade aparente. Quando da administração oral prévia desse tipo de moléculas, é necessário considerar formulações farmacêuticas mais complexa, incluindo (i) solubilidade limitada em meio aquoso, (ii) degradação em fluidos gastrointestinais, (iii) afinidade para o citocromo intestinal e hepático P450 (CYP3A4) e glicoproteína-P (P-gp) na barreira intestinal e (iv) permeabilidade intestinal fraca. Razões com esta levam, muitas vezes, à escolha da administração parenteral para este tipo de fármacos (MAZZEFERRO *et al.*, 2012).

Além disso, a quimioterapia por administração intravenosa requer uma visita hospitalar, enfermagem e cuidado paliativo. Embora o uso de bombas ambulatoriais e cateteres permanentes permita a instalação da quimioterapia intravenosa em casa, esse tipo de

administração permanece inconveniente para os pacientes. É doloroso, pode levar a hemorragia e, a longo prazo, frequentemente suscetibiliza o paciente à infecções, hemorragia e trombose venosa (MAZZEFERRO *et al.*, 2012).

Tabela 2 - Alguns exemplos de quimioterápicos disponíveis por via oral nos EUAs

MEDICAMENTO	FORMA	INDICAÇÃO
Altretamine	Cápsula	Câncer de ovário
Bera	Cápsula	Linfoma de ceulas T cutaneo
Capecitabina	Comprimido	Câncer de mama metastatico
Clorambucil	Cápsula	Leucemia linfocítica crônica
Etoposideo	Cápsula	Câncer de pulmão
Idarubicina	Cápsula	Leucemia mielogenica aguda
Lomutina	Cápsula	Câncer de colon, pulmão e cérebro
Melfalan	Comprimido	Mieloma múltiplo
Mitotano	Cápsula	Carcinoma adrenal

Fonte: MAZZEFERRO e colaboradores (2012).

A maioria dos medicamentos anticancerígenos orais não se baseia em novas moléculas, mas sim representam novas formulações adaptadas dos medicamentos já utilizados na terapia intravenosa (MAZZEFERRO *et al.*, 2012). A necessidade de desenvolver novas formulações, de expandir a oferta de novos medicamentos oncoterápicos e, principalmente, buscar agentes menos tóxicos, tem mantido as investigações nessa área clínica em nível mundial, com especial atenção para as pesquisas envolvendo produtos naturais (ALI *et al.*, 2012). Segundo os dados da *Food and Drug Administration* (FDA) observou-se que 40% das moléculas aprovadas pela agência são compostos naturais ou são inspirados por eles, dos quais 74% são utilizados na terapia anticancerígena (SECA & PINTO, 2018).

2.1.1 Antineoplásicos de origem natural

Os vegetais representam as maiores fontes de substâncias ativas que podem ser usadas na terapêutica, devido à grande diversidade estrutural de metabólitos produzidos e, talvez, a fonte mais antiga de medicamentos para o homem (FOGLIO *et al.*, 2006). A descoberta de novos anticancerígenos de origem vegetal tem incentivado as pesquisas nessa área. Distintos mecanismos de ação são relacionados a antineoplásicos derivados de plantas, tais como

interação com ácido desoxirribonucleico (ADN) inibição enzimática e interação com outras proteínas. Em geral, estes mecanismos visam à interrupção do ciclo de células cancerosas, tendo como característica essencial o máximo de distinção entre essas e as células normais (BRANDÃO *et al.*, 2010).

Um dos exemplos mais importantes de antineoplásicos de origem vegetal são os alcaloides extraídos da *Catharanthus roseus* (L.) G. Don, conhecida também como ‘vinca’, tradicionalmente utilizada pela população de Madagascar no tratamento de diabetes. Durante os testes de atividade hipoglicemiante, os extratos dessa espécie produziram granulocitopenia em consequência da supressão da medula óssea dos animais, induzindo a avaliação que se seguiu, em modelos farmacológicos de leucemias e linfomas. A confirmação da atividade nesses modelos levou ao isolamento da vimblastina e vincristina, hoje de grande utilidade no tratamento de linfoma de Hodgkin, sarcoma de Kaposi, câncer de ovário e testículos, e leucemia linfoblástica aguda infantil. Outra descoberta importante na área de câncer envolveu as substâncias presentes em espécies do gênero *Podophyllum* (*P. peltatum* e *P. emodii*) utilizadas pelas populações nativas da América e da Ásia no tratamento do câncer de pele e verrugas. A partir da podofilotoxina (da classe química das lignanas), foram desenvolvidos os agentes citotóxicos etoposídeo e o teniposídeo, posteriormente introduzidos na terapia do câncer (BRANDÃO *et al.*, 2010; FOGLIO *et al.*, 2006; MANN, 2002).

Descobertas como essas encorajaram o *National Cancer Institute* (NCI) dos Estados Unidos da América (EUA) a patrocinar um programa de *screening* para agentes anticancerígenos, com extratos vegetais. Entre 1960 e 1982 foram avaliadas 35.000 amostras vegetais. O resultado mais importante foi a descoberta do paclitaxel em 1971, isolado da casca do teixo (*Taxus baccata* L. e *Taxus brevifolia* Nutt.). Estudos clínicos revelaram que essa substância era capaz de regredir o câncer de mama e de ovário, resistentes à terapia tradicional (BRANDÃO *et al.*, 2010; MANN, 2002).

2.2 POTENCIAL ANTINEOPLÁSICO DO LIMONENO E SEUS DERIVADOS PERÍLICOS: ÁLCOOL PERÍLICO, ÁCIDO PERÍLICO E PERILALDEÍDO

Entre os compostos naturais, os monoterpenos têm demonstrado significantes atividades contra câncer de mama, pâncreas, estômago, pulmão, pele, fígado e próstata, em modelos animais (CHOW *et al.*, 2002). Na base desta ação está a capacidade que estes compostos possuem em inibir a farnesilação de proteínas Ras, que são transdutoras das informações da membrana celular para o núcleo nas células cancerígenas, regulando a

sobrevivência e reprodução das células. O limoneno foi o primeiro desta classe a ser estudado como agente anticâncer, mas seu derivado álcool perílico é o que tem apresentado maior potencial até o momento (RIPPLE *et al.*, 2000; LIU, 2003). Isso motivou sua escolha pelo NCI como protótipo de monoterpene a ser financiado em testes pré-clínicos, de formulação farmacêutica, e testes clínicos de fase I e II (BAILEY *et al.*, 2008).

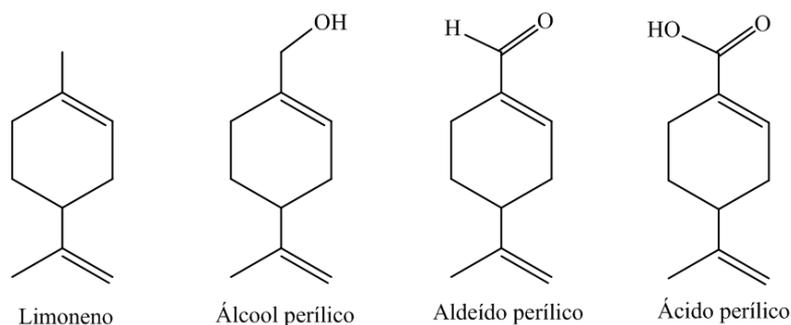


Figura 3 – Estrutura química do Limoneno e três de seus derivados perílicos.
Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Limoneno é o monoterpene mais comum, perfazendo até 95% do óleo da casca de frutas cítricas (laranja, limão), nas quais é o responsável pelo odor (BATHAIE & TAMANOI, 2014). É encontrado naturalmente no suco de laranja, em uma concentração média de 100 mg/L (CHOW *et al.*, 2002). Trata-se de uma molécula quiral com dois enantiômeros possíveis: o D-limoneno (dextrógiro, forma quiral R) e o L-limoneno (levógiro, forma quiral S). O isômero mais comum tem a configuração (R), que corresponde ao D-(+)-limoneno (CAS 5989-27-5), que possui um forte cheiro de laranja. Sua nomenclatura química completa (*Chemical Abstract*²) é (R)-1-metil-4-(1-metiletenil)-ciclohexeno e pela *International Union of Pure and Applied Chemistry* é (R)-(+)-para-menta-1,8-dieno (BATHAIE & TAMANOI, 2014). À maneira do limoneno, seus derivados perílicos também possuem o mesmo centro quiral e, portanto, existem nas duas conformações.

Quando ingerido, o limoneno é diretamente absorvido pelo trato gastrointestinal tanto de humanos quanto de animais, dispersando-se rapidamente por diferentes tecidos e sendo detectável no soro, fígado, pulmão, rim, e outros órgãos (BATHAIE & TAMANOI, 2014). Os seres humanos e outros mamíferos não produzem limoneno nem álcool perílico, mas possuem enzimas hepáticas P450 que oxidam o limoneno ao álcool perílico e outros produtos

² *Chemical Abstracts* é um index da literatura científica na área química. Os *Chemical Abstracts* são publicados desde 1907. A CAS mantém também o registro CAS, uma base de dados de substâncias químicas, onde cada substância recebe um número CAS único, que é utilizado para identificar as substâncias químicas em uma série de situações, incluindo as transações comerciais.

metabólicos. Por exemplo, os microsossomas hepáticos de seres humanos, camundongos, ratos, cobaias, coelhos, cães e macacos produzem facilmente álcool perílico quando atuam no limoneno usado como substrato. Ainda, em seres humanos, cães e ratos, constatou-se que o álcool perílico é rapidamente metabolizado para aldeído perílico, ácido perílico e ácidos *cis*- e *trans*-dihidroperílicos. Estes são detectados durante a excreção, principalmente na urina e, em menor grau, na bile (CHEN *et al.*, 2015), após glicuronidação pela enzima UDP-glicuroniltransferase. A figura 4 esquematiza a metabolização do limoneno.

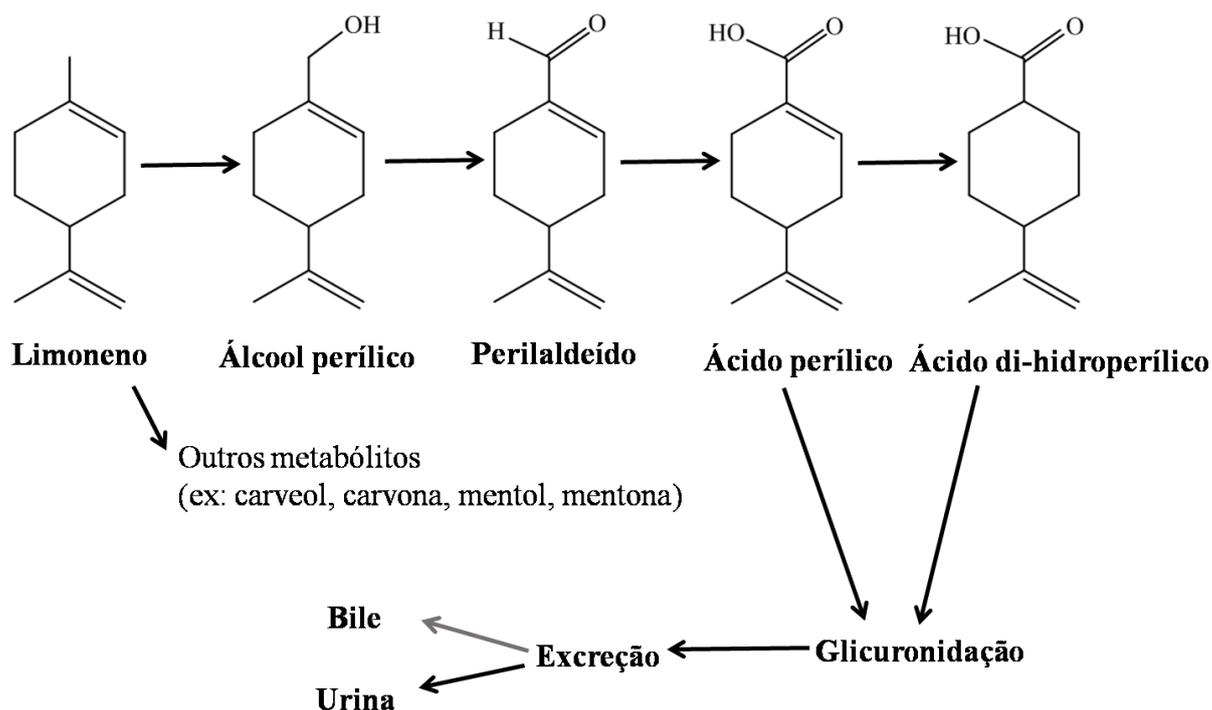


Figura 4 – Esquema simplificado da metabolização do limoneno

Fonte: CHEN e colaboradores (2015).

O álcool perílico (POH) ou 4 isopropenil-1-ciclohexenometanol (CAS: 18457-55-1) é um derivado hidroxilado do limoneno. Traços ou quantidades pequenas dele podem ser detectados naturalmente em muitos óleos essenciais, como aqueles oriundos de lavanda, hortelã, hortelã-pimenta, sálvia, cereja, cranberries, shiso (*Perilla frutescens*), capim-limão, bergamota selvagem, palmorosa, sabina-rasteira, alcaravia e sementes de aipo (NCI-DCPC, 1996; BATHAIE & TAMANOI, 2014). Em 1965, o POH alcançou o status GRAS (*Generally Recognized as Safe*) para uso como agente flavorizante pelo FEMA, sendo também aprovadao como aditivo de alimentos pelo FDA e pelo Conselho Europeu (NCI-DCPC, 1996).

O limoneno e o álcool perfílico possuem várias funções inibitórias e estimulatórias em algumas vias chaves envolvidas na progressão e regressão tumoral, ilustradas na figura 8. Ambos monoterpenos desempenham um papel importante na regulação da morte celular. O limoneno exerce os seus efeitos por *upregulation* de BAX (*Bcl-2-Associated X Protein*), liberação do citocromo c, caspase-3, caspase-9, TGF- β (*Transforming Growth Factor β*) e *downregulation* de Bcl-2 (*B-Cell Lymphoma-2*) antiapoptótico. O álcool perfílico também realiza *upregulation* em Bak (*Bcl-2 Homologous Antagonist/Killer*), caspase-3, FasL (ligante de Fas), TGF- β , c-fos e c-Jun; bloqueia a fosforilação de ERK1/2 (*Extracellular Signal-Regulated Kinase*) e a via de Mek-Erk (*Mitogen/Extracellular Signal-Regulated Kinase - Extracellular Signal-Regulated Kinase*). Tanto o limoneno como o álcool perfílico podem inibir a progressão tumoral por *downregulation* da produção basal de VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*) em células cancerosas. Eles também suprimem a via do mevalonato, bem como isoprenilação de pequenas proteínas G, permitindo a regressão tumoral (BATHAIE & TAMANOI, 2014).

Uma vez que o álcool perfílico e o limoneno interferem com algumas vias de sinalização envolvidas na patogênese do câncer, faz sentido que este produto natural possa ser utilizado como abordagem farmacológica para um potencial tratamento dos tumores em humanos. Assim, ao longo dos últimos 25 anos, muitos estudos pré-clínicos (*in vitro* e *in vivo*) têm explorado esta possibilidade.

A atividade antitumoral do álcool perfílico foi observada em testes pré-clínicos em diferentes tipos de câncer, como o de mama, pancreático, de colon-retal, de próstata, hepático e cerebral (glioblastoma) (DA FONSECA *et al.*, 2008).

A exemplo do limoneno, existem alguns ensaios clínicos publicados e outros ainda em andamento com o álcool perfílico, mas com certeza esta molécula é a que vem recebendo maior atenção. Os estudos clínicos de fase inicial executados com o álcool perfílico em pacientes com câncer avançado reportaram poucos casos de estabilização da doença; contudo, mesmo assim é considerado promissor no tratamento do glioblastoma. O limoneno mostrou resultados encorajadores em ensaios clínicos para o câncer de mama (MILLER *et al.*, 2013 e DA FONSECA *et al.*, 2008).

Há poucos dados na literatura acerca do ácido perfílico (POOH) ou 4-(1-metiletenil)-1-ciclohexeno-1-carboxilato (CAS: 7694-45-3). Ele é o metabólito do álcool perfílico encontrado em maior quantidade no plasma, já sendo detectado 30 minutos após a administração, atingindo o pico em 1,7 h e uma meia vida de 1,1h (MORGAN-MEADOWS *et al.*, 2003). Testes *in vitro* desmostraram que o POOH inibe a proliferação de células de câncer de pulmão

com um aumento na atividade de caspase-3 e clivagem de PARP (poliADP-ribose polimerase) (YERUVA *et al.*, 2007).

O perilaldeído (PAH) ou 4-prop-1-en-2-ylcyclohexeno-1-carbaldeído (CAS: 2111-75-3) ocorre naturalmente na planta *Perilla frutescens*, mas também é um metabolito natural da ingestão do limoneno ou do álcool perílico. A ele são atribuídas várias atividades terapêuticas, entre elas a anticarcinogênica, anti-inflamatória, antialérgica, antioxidante, vasodilatadora e neuroprotetiva. É considerado seguro e utilizado na indústria alimentícia como flavorizante. Um de seus derivados, o 8,9-epóxido-perilaldeído, foi descrito como ativo contra sarcoma *in vitro* (ANDRADE *et al.*, 2016; OMARI-SIAW *et al.*, 2016).

2.3 ENSAIOS CLÍNICOS: ASPECTOS BÁSICOS

O processo de desenvolvimento de um novo medicamento inicia na descoberta por triagem de novos compostos, através de ensaios robustos, orientados para o alvo desejado. Uma vez identificados aqueles potencialmente mais eficazes, segue a confirmação do efeito terapêutico e da evidência de sua segurança de uso, por intermédio da pesquisa pré-clínica. Durante essa fase, avaliam-se os efeitos farmacológicos e tóxicos do produto em estudos *in vitro* e *in vivo* (testes em animais); o que inclui investigações sobre absorção e metabolismo do medicamento, toxicidade dos metabólitos do medicamento, e a velocidade com que o medicamento e seus metabólitos absorvidos, transformados e excretados do sistema fisiológico (KARLBERG & SPEERS, 2010). Caso os resultados sejam promissores, a molécula selecionada segue para a próxima fase que é a pesquisa clínica.

A pesquisa clínica é definida como qualquer investigação científica prospectiva dirigida a seres humanos, com o intuito de descobrir ou verificar os efeitos farmacodinâmicos, farmacocinéticos, farmacológicos, clínicos e outros possíveis efeitos dos produtos investigados, além de reavaliar sua segurança e eficácia, agora em seres humanos (CARVALHEIRO & QUENTAL, 2007; ZUCCHETTI & MORRONE, 2012). Nesse sentido, os ensaios clínicos são uma das mais valiosas fontes de evidências sobre a eficácia e a segurança de intervenções em saúde (CARVALHEIRO & QUENTAL, 2007).

O primeiro conjunto de regras éticas para pesquisa em humanos, formulado pela comunidade médica internacional, foi estabelecido em 1964 na Declaração de Helsinque. Todavia, foi apenas em 1996, que a Diretriz GCP-ICH (*Good Clinical Practice-International Conference on Harmonisation*) foi publicada, após a Conferência Internacional sobre Harmonização de Requisitos técnicos para registro de fármacos para uso em humanos,

reunindo União Europeia, Japão e Estados Unidos. O objetivo do GCP-ICH é harmonizar as normas e eliminar atrasos desnecessários no desenvolvimento e disponibilização global de novos medicamentos, garantindo, ao mesmo tempo, a qualidade, segurança e eficácia, ao prever obrigações regulatórias para proteção da saúde pública. Dessa forma, este guia tornou-se a principal diretriz internacional para a realização de estudos clínicos (KARLBERG & SPEERS, 2010). O Brasil se baseia formalmente em uma adaptação do GCP-ICH, elaborado pela Organização Panamericana de Saúde (OPAS), denominado Documento das Américas (GOMES, 2012). Recentemente, em 2016, o Guia de Boas Práticas Clínicas do ICH foi atualizado (Termo Aditivo, itens 4.2.5 e 4.2.6; ICH E6(R1), para recomendar que os estudos clínicos devem considerar os riscos tanto no nível clínico (desenho do estudo, coleta dos dados e processos de consentimento), quanto na abordagem dos sistemas (Procedimentos Operacionais Padrão, sistema de registro dos dados personalizados).

No Brasil, a pesquisa clínica está sujeita à regulação de dois órgãos principais, o Conselho Nacional de Saúde (CNS) e a ANVISA (GOMES, 2012; ZUCCHETTI & MORRONE, 2012), sendo que a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) é a instância colegiada vinculada ao CNS, responsável pela análise dos aspectos éticos da pesquisa clínica, nos casos previstos pela legislação. É também responsável pelo reconhecimento oficial dos *Comitês* de Ética em Pesquisa envolvendo Seres Humanos (CEPs) e por criar e rever as normas pertinentes. Os CEPs representam os comitês responsáveis pela análise, em primeira instância, das implicações éticas da pesquisa clínica.

No Brasil, todos os ensaios clínicos são avaliados pelo CEP da instituição onde a pesquisa é realizada, além da CONEP realizar uma segunda avaliação, quando necessário. As instituições de pesquisa são responsáveis por constituir um ou mais comitês, de acordo com suas necessidades. Quando a instituição em que a pesquisa será realizada não contar com CEP, a CONEP pode indicar o de outra instituição para analisar o protocolo (GOMES, 2012; ZUCCHETTI & MORRONE, 2012). A aprovação pela ANVISA, através de sua Gerência de Medicamentos Novos, Pesquisa e Ensaios Clínicos (GEPEC) também é necessária para validar pesquisas com medicamentos e produtos para a saúde que precisam de autorização para importação (ZUCCHETTI & MORRONE, 2012).

Portanto, antes de serem iniciados, os estudos clínicos devem necessariamente ter seu desenho definido, submetido e aprovado pela agência reguladora, sob a forma de um protocolo – documento que define o planejamento do estudo e seus objetivos, além de uma metodologia e considerações estatísticas que possibilitem avaliação e acompanhamento dos testes (GOMES, 2012). Toda comunicação referente ao processo de aprovação pelo CEP e

CONEP – desde o envio do protocolo até a divulgação de pareceres – será realizada através da Plataforma Brasil (PETROW, 2013).

Caso seja aprovada pelos Órgãos Regulatórios, uma substância candidata a novo fármaco é testada em ambiente clínico ao longo de 4 fases de ensaios, classificadas como Fase I, Fase II, Fase III e Fase IV. Normalmente, as três primeiras fases são realizadas como pré-condição para registro e a quarta é solicitada pela agência reguladora depois do registro e comercialização do novo medicamento (QUENTAL & SALLES FILHO, 2006; GOMES, 2012; PETROW, 2013). A importância dessa última fase reside em evitar problemas que aparecerão no longo uso do medicamento aprovado, que não apareceriam nas três primeiras fases. Por exemplo, medicamentos como cerivastatina, com os nomes comerciais Baycol e Lipobay, ou a troglitazona e rofecoxibe, respectivamente conhecidos como Rezulin e Vioxx, foram aprovados para venda; porém mais tarde foram retirados do mercado por expor os pacientes a graves riscos para a saúde (KARLBERG & SPEERS, 2010). As características das fases, assim como o caminho do estudo da molécula alvo até o produto final está no esquema da figura 5.

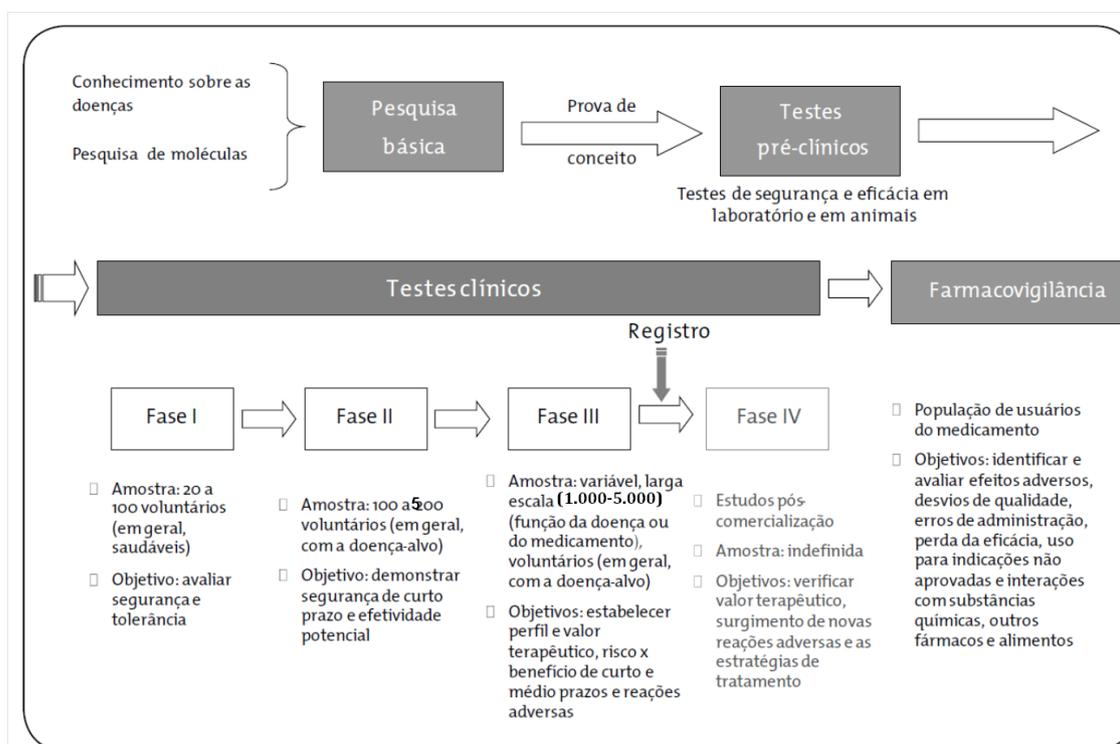


Figura 5 – Esquematização dos estudos envolvidos para desenvolvimento de um novo medicamento.
Fonte: Adaptado de GOMES (2012).

Cerca de 20% de todos os estudos fase I são realizados em pacientes em vez de voluntários saudáveis, já que alguns medicamentos são muito tóxicos para serem administrados em pessoas saudáveis, como é o caso de muitos medicamentos anticâncer.

Os três fundamentos do desenho de um estudo clínico são: Controle, Randomização e Mascaramento. Esta é a forma ideal de garantir que os resultados não sejam influenciados de forma não aleatória por fatores externos. Sem usar estes fundamentos, as conclusões podem não refletir a realidade. A randomização é um método para alocar participantes em vários grupos ou partes do estudo de maneira aleatória (por acaso). Isto resulta em grupos que são geralmente comparáveis, minimizando os vieses do estudo. Os resultados de um estudo clínico podem ser enviesados (tendenciosos) em favor de um ou outro regime de tratamento em teste de diversas formas (KARLBERG & SPEERS, 2010).

O mascaramento do estudo se refere ao conhecimento de como os indivíduos estão distribuídos nos grupos do ensaio que os compreendem: a equipe de investigação, os pacientes, o bioestatístico que faz as análises e o investigador responsável pela análise de dados (HOCHMAN *et al*, 2005). A tabela 3 mostra os diferentes níveis de mascaramento.

Tabela 3 -Tipos de mascaramento utilizados em ensaios clínicos

ABERTO	FECHADO			
	SIMPLES-CEGO	DUPLO-CEGO	TRIPLO-CEGO	QUADRUPLO-CEGO
Trata-se do ensaio onde não ocorre mascaramento. Todos sabem a que grupo pertence cada indivíduo	Normalmente significa que uma das categorias de indivíduos desconhece a intervenção alocada ao longo do estudo	Participantes e investigadores desconhecem a intervenção alocada ao longo do estudo	Participantes, investigadores e bioestatístico desconhecem a intervenção alocada ao longo do estudo	Todos desconhecem como a intervenção está alocada ao longo do estudo.

Fonte: HOCHMAN e colaboradores (2005); KARLBERG e SPEERS (2010).

O tipo de controle pode ser placebo, não-tratamento, dose- ou regime-diferenciado em relação ao tratamento-teste ou o tratamento padrão (tabela 4).

Tabela 4 - Tipos de controle nos ensaios clínicos

PLACEBO-CONTROLADO	Os participantes são alocados a um tratamento teste ou a um tratamento de aparência idêntica, mas que não contém o medicamento em teste. Tais estudos são quase sempre duplo-cegos. No Brasil o uso do placebo é vedado caso exista tratamento alternativo disponível (GOMES, 2012).
CONTROLE SEM TRATAMENTO	Os participantes são randomizados para tratamento ou sem tratamento. Aqui, os participantes e investigadores não estão cegos quanto ao tratamento administrado. Este desenho é necessário e apropriado apenas quando é difícil ou impossível usar o mascaramento.
DOSE-RESPOSTA	Em um estudo randomizado, de dose fixa, dose-resposta, os participantes são randomizados para um dentre vários grupos de dose fixa. Os estudos dose-resposta são normalmente duplo-cegos.
ESTUDO COM CONTROLE ATIVO	Os participantes são randomizados para o tratamento teste ou para um tratamento controle ativo. Tais estudos são normalmente duplo-cegos, mas isto nem sempre é possível, uma vez que pode ser impossível mascarar os dois tratamentos. Os estudos com controle ativo podem ter dois objetivos em relação à demonstração de eficácia: mostrar que o tratamento teste é tão eficaz quanto o tratamento padrão, ou que é superior ao tratamento eficaz conhecido.

Fonte: Adaptado de KARLBERG e SPEERS (2010).

Atualmente, existe uma preferência na realização de estudos multicêntricos na fase 3, por duas razões: (1) ajudam a atingir um número suficiente de participantes para atender o objetivo do estudo dentro de um prazo razoável; (2) produzem achados mais gerais, pois os participantes são recrutados de uma população maior e uma maior diversidade de cenários clínicos, representando uma situação mais típica do futuro uso do agente medicamentoso ou da nova terapia (KARLBERG & SPEERS, 2010).

Algumas características devem ser observadas quando se visa extrapolar resultados de um estudo para determinada realidade clínica. Essa possibilidade de generalizar os dados de pesquisa para uma circunstância cotidiana é denominada validade externa. Quanto mais as características consideradas pelo estudo forem próximas de determinada realidade de trabalho, mais os resultados do ensaio clínico podem ser extrapolados; também, mais relevante se torna a evidência dentro dessa realidade. Especificamente, quatro aspectos básicos determinam a validade externa: participante, intervenções, ambiente e desfechos (SOUZA, 2009).

Os participantes devem apresentar características próximas àquelas da população de interesse, os aspectos a seguir devem ser vistos com atenção como: idade, gênero, severidade de doença e fatores de risco, co-morbidades associadas. As intervenções podem apresentar diferentes regimes de aplicação, com distinção de dose, períodos e vias de administração, incluindo o uso de tratamento simultâneo ao ensaio clínico, o que impactaria no resultado do

ensaio clínico. Diferentes ambientes de estudo também podem acarretar diferentes resultados. O tipo e definição das variáveis de desfecho são altamente importantes (SOUZA, 2009).

Quanto à validade interna, esta questão se relaciona a quanto o erro sistemático (viés) é minimizado. Quatro tipos principais de vieses podem ser considerados dentro do ensaio: seleção, desempenho, detecção e atrito (SOUZA, 2009).

O viés de seleção simboliza a presença de alguma diferença sistemática entre os grupos comparados. Duas manobras são utilizadas para minimizar essa fonte de viés: randomização (mencionada anteriormente), e a alocação oculta, que parte do princípio de que há a possibilidade de rejeitar determinados participantes em certos grupos, desde que isso seja decidido e realizado antes de se aplicar a intervenção. Por sua vez, o viés de desempenho consiste naquelas diferenças sistemáticas no cuidado fornecido para os participantes em função dos grupos. O manejo do viés de desempenho se dá por meio do mascaramento. Um terceiro tipo de viés é o de detecção, que se refere às diferenças sistemáticas entre grupos durante a análise dos desfechos. Também é minimizado pelo mascaramento, neste caso, causado especificamente pelos investigadores de desfecho. Por fim, outra forma de erro sistemático é representada pelo viés de atrito, que corresponde à diferença sistemática entre grupos devido à perda de participantes do estudo, seja por óbito ou abandono. É fundamental que os autores descrevam se houve perdas no ensaio e os motivos. Além disso, cada participante, mesmo que não receba a intervenção alocada, deve ser analisado ao fim do estudo, como se a tivesse recebido. A esse princípio designa-se intenção-de-tratar (SOUZA, 2009). O desfecho de um estudo clínico deve cumprir quatro critérios: ser interpretável e mensurável, sensível ao objetivo do estudo, e clinicamente relevante (KARLBERG & SPEERS, 2010). A figura 6 descreve os tipos de desfechos utilizados em ensaios clínicos.

DESFECHO PRIMÁRIO	<ul style="list-style-type: none">• Representa a variável que fornece a evidência mais relevante e convincente relacionada ao objetivo principal do estudo. Geralmente, há apenas uma variável primária – normalmente uma variável de eficácia.
DESFECHO SECUNDÁRIO	<ul style="list-style-type: none">• Medidas de apoio ao objetivo primário ou medidas de efeitos relacionados a outros objetivos secundários. Estes também precisam ser pré-definidos no protocolo, com explicação da sua importância e função na interpretação dos resultados do estudo.
DESFECHO CLÍNICO	<ul style="list-style-type: none">• Mede diretamente benefícios clínicos substanciais para os participantes, por exemplo, sobrevida ou redução do efeito de uma doença
DESFECHO SUBSTITUTO	<ul style="list-style-type: none">• É uma medida laboratorial ou sinal físico usado como substituto para um desfecho clinicamente significativo que mede diretamente como um participante se sente, age ou sobrevive. Deve haver uma associação entre a resposta em medidas substitutas e a resposta em desfechos clínicos

Figura 6 – Classificação dos desfechos utilizados em ensaios clínicos
Fonte: Adaptado de KARLBERG & SPEERS (2010).

Geralmente, um desfecho clínico é adotado no estudo clínico confirmatório final com mais pacientes (fase III) de uma nova terapia médica, enquanto um desfecho substituto é mais frequentemente usado em estudos exploratórios iniciais (fase II) do produto em estudo (KARLBERG & SPEERS, 2010).

Diversos desfechos podem ser avaliados em estudos clínicos com medicamentos oncológicos. Os desfechos recomendados conforme o “Guia para desfechos para estudos clínicos de medicamentos oncológicos” nº 03/2015 (versão 1) (ANVISA, 2015) são os descritos na tabela 5 abaixo:

Tabela 5 - Definição dos principais desfechos para medicamentos oncológicos conforme Guia da Anvisa 03

SOBREVIDA GLOBAL (SG)	SOBREVIDA LIVRE DE PROGRESSÃO (SLP)	SOBREVIDA LIVRE DE DOENÇA (SLD)	TEMPO ATÉ PROGRESSÃO DA DOENÇA (TTP)
Tempo da randomização até morte por qualquer causa e é medida na população por intenção de tratar.	Tempo entre a randomização e a progressão da doença ou morte do paciente por qualquer causa.	Tempo entre a randomização e a recorrência do tumor ou morte por qualquer causa.	Tempo entre a randomização e a progressão da doença.
TAXA DE RESPOSTA OBJETIVA (TRO)	QUALIDADE DE VIDA (QoL)	BIOMARCADORES	
A proporção de pacientes com redução do tumor em uma dimensão pré-definida e por um período de tempo mínimo	Uma medida definida pelo paciente utilizando a definição de saúde da OMS, considerando níveis de satisfação física, mental e social com o tratamento, bem como seu resultado.	É uma molécula biológica encontrada no sangue, outros fluidos corporais ou tecidos que representa um sinal de processo normal ou anormal ou de uma condição ou doença. Deve ser capaz de ser medido e avaliado objetivamente para servir como indicador.	

Fonte: ANVISA, 2015.

Desfechos que avaliam o bem-estar e a sensação do paciente também são considerados medidas diretas de benefício clínico. Entretanto, resultados de questionários de avaliação de qualidade de vida atualmente não são aceitos como desfecho primário de estudos clínicos devido a limitações metodológicas (ANVISA, 2015).

O uso de desfechos substitutos é comum nos estudos clínicos, assim como sua transposição para a prática clínica. Idealmente, um desfecho substituto, seja ele qual for, deve ser validado por métodos estatísticos. Uma análise de correlação entre o desfecho substituto e o benefício clínico esperado é necessária, mas insuficiente para validá-lo. Deve-se demonstrar adicionalmente que o efeito do tratamento sobre o desfecho substituto em análise se correlaciona com o efeito do tratamento na sobrevida global. Dessa forma, para que um desfecho substituto seja adequadamente validado, deve ser conduzida uma meta-análise para validá-lo com relação a uma classe terapêutica específica, para uma doença específica em um estágio específico. Por estas razões, desfechos substitutos realmente validados são raros (ANVISA, 2015).

2.3.1 Registros de ensaios clínicos

A necessidade de manter registro das pesquisas clínicas em andamento ou as já finalizadas surgiu por vários motivos: para aumentar a transparência das pesquisas científicas

tanto para a comunidade científica como para o público em geral; pela responsabilidade ética com os participantes dos estudos clínicos; para divulgar publicamente as pesquisas em andamento e seus resultados, sejam estes positivos ou negativos; para dirimir e evitar conflitos de interesses, principalmente em relação ao financiamento das pesquisas (CASTRO, 2009).

Várias iniciativas buscaram garantir o acesso aberto aos dados e à transparência das informações de pesquisas clínicas impulsionando a criação de registros de ensaios clínicos. O *ClinicalTrials.gov*, o maior registro público existente, foi criado em 2000 e é mantido pela *National Library of Medicine* (NLM), seu escopo inclui estudos observacionais e de intervenção (ZARIN *et al.*, 2005; GUIMARÃES, 2007).

A OMS, com objetivo de fornecer maior visibilidade aos Registros de Ensaios Clínicos validados, lançou em 2007 a *International Clinical Trials Registry Platform* (ICTRP), uma interface que permite busca simultânea em diversas bases de registros primários (CARVALHEIRO E QUENTAL, 2007). Atualmente a ICTRP importa registros de ensaios clínicos de 17 bases de registros primários de diversas nacionalidades, inclusive a do Brasil (GUIMARÃES, 2007; ICTRP, 2018).

O Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos (ReBEC) criado em 2010, é um projeto conjunto do Ministério da Saúde (DECIT/MS), Organização Panamericana de Saúde (OPAS), Centro Latinoamericano e do Caribe de Informação em Ciências da Saúde (Bireme) e Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ). Desde de 2011, o ReBEC faz parte os registros de ensaios clínicos primários da ICTRP, isso significa que os ensaios clínicos nele registrados integrarão automaticamente a rede da OMS de registros de pesquisa clínica (ReBEC, 2011).

Em 2005, a *International Committee of Medical Journal Editors* (ICMJE) passou a requerer dos editores de revistas científicas a ele associadas que passassem a exigir dos autores o número de registro do ensaio clínico no momento da submissão dos artigos. Já para os países Latino-Americanos, a exigência do número de registro do ensaio clínico é critério de aceitação dos trabalhos em revistas indexadas nas bases de dados LILACS (Literatura Latino - Americana e do Caribe em Ciências da Saúde) e SciELO (*Scientific Electronic Library Online*), desde maio de 2007, sob recomendação da BIREME (Centro Latino-Americano de Informação em Ciências da Saúde) (CASTRO, 2009).

2.3.2A Pesquisa Clínica em números

Os testes clínicos são classificados como um dos tipos de estudo epidemiológico experimental, compreendendo o estágio mais caro e demorado do processo de desenvolvimento de um medicamento. Responde, hoje, por mais da metade do pessoal empregado em atividades de P&D na indústria farmacêutica norte-americana e quase 70% de seus investimentos (GOMES *et al.*, 2012).

Segundo dados norte-americanos, medicamentos oncológicos ocupam o terceiro lugar nos custos mais caros de ensaios clínicos gerais (US\$ 78,6 milhões) por área terapêutica, após estudos do sistema respiratório (US\$ 115,3 milhões) e dor e anestesia (US\$ 105,4 milhões). Estimou-se que o desenvolvimento total de um medicamento oncológico custa 20% a mais quando comparado com o mesmo processo para outros medicamentos; o que se traduz em US\$ 3,12 bilhões em custos para a aprovação de um novo medicamento para câncer. Para os estudos oncológicos, os custos totais médios por estudo incluem: 4,5 milhões de dólares para a fase I; 11,2 milhões para a fase II e 22,1 milhões para a fase III; e US \$ 38,9 milhões para a fase IV (NACI & ALEXANDER, 2014).

Dados da ANVISA de 2010 apontam que as principais classes terapêuticas dos testes clínicos executados no Brasil são a oncologia (24,5%) especialmente câncer de mama e pulmão, endocrinologia (16,2%) e cardiologia (10,5%), refletindo um padrão mundial de busca por medicamentos para essas enfermidades (GOMES *et al.*, 2012), que oneram bastante os sistemas públicos de saúde.

Nos últimos anos, o Brasil tem se tornado o destino preferencial para a condução de testes clínicos na América Latina. Em 2011, foi iniciado o maior número de ensaios entre todos os países do bloco (269 ensaios), registrando o maior crescimento médio no período considerado. Em 2012, o Brasil ocupava a 15ª posição mundial. Acompanhando a tendência mundial 50% dos ensaios são fase 3, por exigirem menor capacitação tecnológica. Os estudos de fase 1 e 2 são concentrados em sua maioria nos EUA e Europa (GOMES *et al.*, 2012).

Em 2010, o mercado brasileiro de testes clínicos foi de US\$ 320 milhões de dólares (GOMES *et al.*, 2012). Há diversos fatores que fundamentam o crescimento da pesquisa clínica no Brasil, como a extensa e diversificada população, boa parte da qual não tem acesso ao tratamento médico; a existência de um sistema público de saúde que facilita o recrutamento do paciente e seu acompanhamento; a alta incidência das doenças mais prevalentes nos países desenvolvidos, a alta taxa de recrutamento e de permanência de

pacientes nos ensaios clínicos, e as normas éticas de pesquisa compatíveis com as de outros países (ZUCCHETTI & MORRONE, 2012).

Estima-se que, nos últimos dez anos, mais de cem mil brasileiros participaram de estudos clínicos. Cerca de 550 instituições médicas e centros de pesquisa no Brasil estão qualificados para fazer testes com medicamentos (GOMES *et al.*, 2012). Segundo dados referentes ao período de 2005 a 2009, as cidades brasileiras mais capacitadas com centros de pesquisa clínica foram: São Paulo (37), Porto Alegre (13), Rio de Janeiro (10), Belo Horizonte (10), Campinas (9), e Curitiba (7) (ZUCCHETTI & MORRONE, 2012).

Dados divulgados pela ANVISA apontam aprovação de, em média, 200 estudos clínicos ao ano. O tempo total de processo pode ultrapassar 1 ano, em contrapartida aos Estados Unidos, Canadá e França (3-4 meses) e Argentina (6 meses). A razão é a necessidade de avaliação ética múltipla. Por exemplo, no caso dos projetos multicêntricos de origem estrangeira, essa avaliação é quádrupla (GOMES *et al.*, 2012; ZUCCHETTI & MORRONE, 2012).

2.4 REVISÃO DE SISTEMÁTICA E META-ANÁLISE COMO FERRAMENTAS EM PROCESSOS DECISÓRIOS

Os ensaios clínicos e a avaliação de seus resultados estão intimamente relacionados ao conceito de ‘evidência’. Este é um termo que vem sendo cada vez mais empregado na área da Saúde devido ao surgimento do movimento da Medicina Baseada em Evidências (MBE) (MELNYK *et al.*, 2012). Basicamente, refere-se ao poder intrínseco que uma compilação de fatos dados como verossímeis e provenientes de pesquisas prévias rigorosas consigam caracterizar processos importantes e com isso subsidiar tomadas de decisões na prática clínica. Neste cenário mutável, ganha importância a constante atualização da literatura científica, a avaliação crítica das evidências e a aplicação dos resultados comprovados ao benefício da sociedade (BASILE, 2014).

A demanda por qualidade máxima do cuidado em saúde, combinada com a necessidade de uso racional de recursos tanto público quanto privado, tem contribuído para aumentar a pressão sobre os profissionais da área no sentido de assegurar a implementação de uma prática baseada em evidências científicas (SAMPAIO & MANCINI, 2007). Por outro lado, a surpreendente profusão de publicações, muitas vezes contraditórias, associada à intensa prática clínica, tende a dificultar a atualização do profissional da área de saúde.

É consenso que os ensaios clínicos controlados e randomizados (ECCR) são os estudos mais adequados para fornecer evidências sobre os efeitos de uma intervenção. No entanto, os resultados de apenas um desses estudos não são suficientes para esclarecer sobre determinada questão de pesquisa ou pergunta clínica. As conclusões são mais robustas quando diferentes estudos investigam os efeitos de uma intervenção e fornecem dados que suportam as mesmas conclusões. Nesse sentido, revisões sistemáticas e metanálise são os métodos mais adequados e atuais para resumir e sintetizar evidências sobre a eficácia e os efeitos de intervenções (SAMPAIO & MANCINI, 2007).

Revisões sistemáticas buscam reconhecer publicações com o máximo rigor científico (estudos bem desenhados e bem conduzidos, com número adequado de pacientes), compilar esses estudos, torná-los acessíveis aos profissionais da saúde - diminuindo, assim, as incertezas clínicas (SAMPAIO & MANCINI, 2007). A busca por resposta na literatura científica é feita pela procura da melhor evidência disponível. Nem todos os estudos clínicos são bem desenvolvidos; dessa forma, é necessário avaliar cuidadosamente a validade e a aplicabilidade clínica dos resultados produzidos por aqueles (SAMPAIO & MANCINI, 2007).

A posição ocupada pela revisão sistemática na hierarquia da evidência (figura 7) ilustra a sua importância para a clínica e a pesquisa. Nessa hierarquia, quando se busca por evidência sobre a eficácia de determinada intervenção ou tratamento, os estudos de revisão sistemática com ou sem meta-análise (incluindo ECCR e estudos experimentais), tendem geralmente a disponibilizar evidência mais forte, ou seja, são estudos mais adequados para responder a perguntas sobre a eficácia de uma intervenção. Essa hierarquia norteia os critérios de classificação de níveis de evidência para diferentes tipos de estudo (prognóstico, diagnóstico, terapêutico, estudos de prevalência e de análise econômica).



Figura 7 – Pirâmide do nível de evidência de artigos da área de saúde: investigações com uma posição mais superior possuem nível de evidência maior.
Fonte: SAMPAIO e MANCINI (2007).

Uma revisão sistemática é uma revisão de uma pergunta formulada de forma clara, que utiliza métodos sistemáticos e explícitos para identificar, selecionar e avaliar criticamente pesquisas relevantes, e coletar e analisar dados desses estudos que são incluídos na revisão. Métodos estatísticos (meta-análise) podem ou não ser usados para analisar e resumir os resultados dos estudos incluídos. A meta-análise se refere ao uso de técnicas estatísticas em uma revisão sistemática, para integrar os resultados dos estudos incluídos na compilação (MOHER *et al.*, 2015).

Para ser considerada como uma revisão sistemática de literatura, os seguintes princípios devem ser seguidos: (1) ser conduzida por um sistema ou método sistemático, (2) apresentar método transparente e explícito, (3) ser replicável e atualizável, e (4) resumir e sintetizar as evidências relativas à questão da revisão (MOHER *et al.*, 2015).

O termo revisão sistemática foi inicialmente utilizado pela Colaboração Cochrane, fundada em 1992 pelo Dr. Ian Chalmers no Reino Unido. O objetivo dela é realizar, auxiliar e disseminar revisões sistemáticas de intervenções em saúde. É praxe registrar as revisões sistemáticas num site eletrônico; registros estes que, em alguns casos, é condição exigida para publicar os resultados em alguns dos periódicos participantes do ICMJE. Este site é o <http://www.cochrane.org/> e representa a Colaboração Cochrane, que é uma entidade sem fins lucrativos e tem centros estabelecidos em vários países do mundo. Seu primeiro credenciamento em um país em desenvolvimento foi no Brasil, quando foi assentada em 1997

dentro da Escola Paulista de Medicina da Universidade Federal de São Paulo (PEREIRA, 2006; BASILE, 2014). O registro na Colaboração Cochrane tende a beneficiar os autores de revisões sistemáticas, pois estabelece a possibilidade de reduzir o risco de um número excessivo de revisões relacionadas a uma mesma pergunta e de fornecer maior transparência ao atualizar as revisões (PEREIRA, 2006).

Em 1987, foram realizados dois estudos que avaliaram a qualidade de meta-análises, demonstrando que os relatos em si eram pouco robustos, e careciam de maior rigor científico (MOHER *et al.*, 2015). Para tratar sobre o sub-aproveitamento desses relatos de meta-análise, em 1996 surgiu um guia chamado recomendação QUOROM (*Quality of Reporting of Meta-analyses*), que foi atualizado em 2005 para PRISMA (*Preferred Reporting Items of Systematic reviews and Meta-Analyses*). A recomendação PRISMA consiste em um *checklist* com 27 itens (ANEXO 2) e um fluxograma de quatro etapas (Identificação, Seleção, Elegibilidade e Inclusão). O objetivo destas ferramentas é ajudar os autores a melhorarem o relato das revisões sistemáticas e meta-análises (MOHER *et al.*, 2015).

O valor de uma revisão sistemática deve-se a duas razões principais: (1) permite extrapolar as revisões de literatura tradicionais (narrativas), que geralmente consistem em uma avaliação subjetiva do autor sobre um pequeno número de estudos, e (2) permite adicionar consistência estatística na síntese dos dados durante a meta-análise (quando esta se faz possível). Esta orientação contrapõe-se às revisões narrativas, que são mais frágeis, pois seus métodos não são explícitos e não há um padrão para o seu desenvolvimento. Os artigos de revisão narrativa são publicações amplas, apropriadas para descrever e discutir o desenvolvimento ou o "estado da arte" de um determinado assunto, sob ponto de vista teórico ou contextual. Os resultados obtidos com estas revisões geralmente são tendenciosos, não esgotam toda a literatura disponível sobre o tema pesquisado e são cientificamente inconclusivos. Constituem, basicamente, de análise da literatura publicada em livros, artigos de revista impressas e/ou eletrônicas e na interpretação e análise crítica pessoal do autor (PEREIRA, 2006).

O objetivo da sistematização é reduzir esses possíveis vieses que ocorreriam em uma revisão não-sistemática; tanto aqueles observados na forma de revisão da literatura e na seleção dos artigos quanto aqueles detectados pela avaliação crítica de cada estudo individualmente (PEREIRA, 2006). De acordo com o Manual Cochrane para Desenvolvimento de Revisões Sistemáticas de Intervenção, versão 5.1.0 (COCHRANE COLLABORATION, 2011), para avaliar o risco de viés em ensaios clínicos deve-se utilizar uma ferramenta em que a avaliação é baseada em domínios, ou seja, uma avaliação crítica é

feita de forma separada para diferentes aspectos do risco de viés desse tipo de estudo (CARVALHO *et al.*, 2013). O anexo 3 traz uma sumarização dos 7 domínios da Ferramenta da Colaboração Cochrane para avaliação do risco de viés em ensaios clínicos randomizados.

É importante destacar que a revisão sistemática é um tipo de estudo retrospectivo, observacional e secundário, isto é, a revisão é usualmente desenhada e conduzida após a publicação de muitos estudos experimentais sobre um tema. Dessa forma, uma revisão sistemática depende da qualidade da fonte primária (ensaios clínicos). Se vieses, oriundos de ensaios clínicos de baixa qualidade, não forem tratados devidamente, podem repercutir negativamente em todo o estudo; desde a tomada de decisão de forma errônea, até a incorporação de novos tratamentos e tecnologias que poderão, subsequentemente, causar mais danos que benefícios num âmbito mais amplo da saúde (SAMPAIO & MANCINI, 2007; CARVALHO *et al.*, 2013).

Uma revisão sistemática possui uma metodologia que possibilita localizar, sintetizar e validar os resultados das publicações sobre um dado tema, refletindo assim o “estado da arte” e norteando a prática clínica. É o modelo de revisão de literatura mais confiável, pois utiliza métodos rigorosos, amplos, explícitos e reproduzíveis de pesquisa que envolve o trabalho de pelo menos dois pesquisadores, que avaliarão, de forma independente, a qualidade metodológica de cada artigo selecionado. É importante que os pesquisadores elaborem um protocolo de pesquisa que inclua os seguintes itens: (i) como os estudos serão encontrados, (ii) critérios de inclusão e exclusão dos artigos, (iii) definição dos desfechos de interesse, (iv) verificação da acurácia dos resultados, (v) determinação da qualidade dos estudos, e (vi) análise da estatística utilizada (SAMPAIO & MANCINI, 2007).

A preparação de um protocolo é um componente essencial do processo de revisão sistemática. Ele garante que uma revisão sistemática seja cuidadosamente planejada e que aquilo que está planejado seja explicitamente documentado antes da revisão começar, promovendo assim uma conduta consistente e responsável da equipe de revisão, e garantindo a integridade da pesquisa e a transparência da revisão final concluída. Um protocolo também pode reduzir a arbitrariedade na tomada de decisões ao extrair e usar dados da pesquisa primária, já que o planejamento fornece uma oportunidade para a equipe de revisão antecipar possíveis problemas.

Os protocolos reportados, claramente, permitem que os leitores identifiquem os desvios dos métodos planejados nas revisões concluídas e verifiquem se estes desvios influenciaram a interpretação dos resultados da revisão e as conclusões obtidas no final. O viés relacionado à notificação seletiva de resultados tem sido, por isso, caracterizado como

um problema sério tanto na pesquisa clínica quanto nas revisões sistemáticas (MOHER *et al.*, 2015).

As etapas críticas para o processo metodológico da revisão sistemática são:

- (1) Formulação da pergunta, que pode ser aparentemente simples, mas que é crucial, pois o processo de resolução do problema só terá sucesso se esta questão inicial for apropriadamente definida;
- (2) Garantia de exaustão da busca, para minimizar o viés de seleção; e
- (3) Definição dos critérios de elegibilidade, pois deles dependerá o bom êxito dos resultados esperados (PEREIRA, 2006).

Uma descrição dos passos para a realização de uma revisão sistemática se encontra na figura 8.

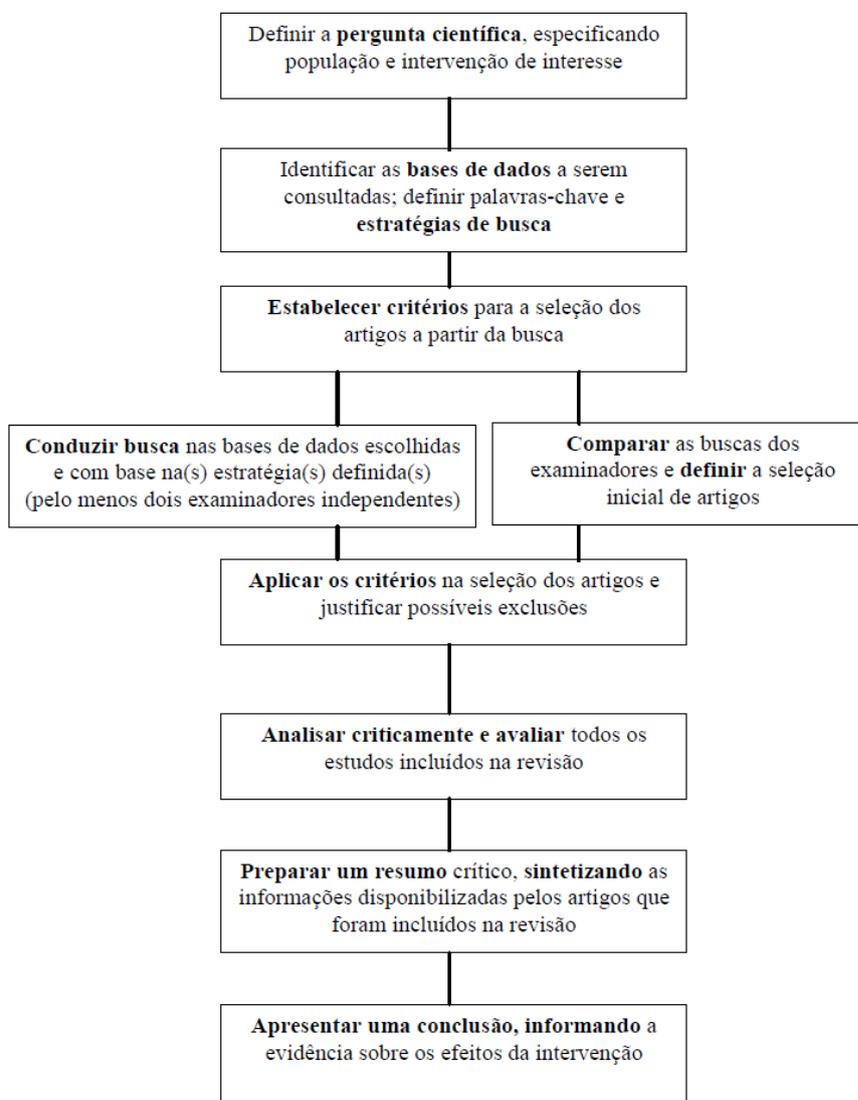


Figura 8 – Descrição geral sobre o processo de revisão sistemática da literatura.

Fonte: SAMPAIO e MANCINI (2007)

Embora existam meta-análises publicadas entre 1904 e 1955, o termo meta-análise foi utilizado pela primeira vez por Glass, em 1976, para indicar a análise estatística dos resultados das análises de muitos estudos individuais, com o propósito de integrar os achados. Às vezes, o termo meta-análise é utilizado como sinônimo de revisão sistemática, quando a revisão inclui meta-análise. Todavia, embora esta sinonímia ocorra ocasionalmente, metanálise e meta-análise têm definições diferentes.

A realização da meta-análise dependerá da homogeneidade dos dados extraídos dos artigos, porque só assim é possível agrupá-los e compará-los estatisticamente. A meta-análise representa uma técnica estatística relevante para integrar e sumarizar resultados de diversos estudos originais, oferecendo uma estimativa de efeito mais precisa em relação ao risco-benefício do tratamento, se comparada a dados peculiares extraídos de um trabalho individual. Por isso as meta-análises são consideradas padrão-ouro no nível de evidência (PEREIRA, 2006; BASILE, 2014).

As principais razões para realizar uma revisão sistemática são: (i) identificar, avaliar e interpretar evidências de pesquisa disponíveis relevantes para um tópico específico; (ii) ajudar a informar práticas e políticas, fornecendo evidências integradas e imparciais nas quais as decisões de baseiem; (iii) identificar lacunas na literatura para informar estudos futuros; (iv) minimizar tendências, usando métodos explícitos e sistemáticos (CAIADO *et al.*, 2016).

As revisões sistemáticas estão cada vez mais em voga, desde que um processo de revisão abrangente e atualizado da literatura se faz essencial, já que seus resultados permitirão a atualização de profissionais de saúde e contribuirão para elaborar diretrizes e tomadas de decisões na área. Assim, as revisões sistemáticas auxiliam gestores de políticas públicas ou indivíduos interessados em informações sobre tratamentos distintos e, ainda, na resolução de questões contraditórias, na promoção de novas hipóteses de estudo, identificação da necessidade de pesquisas adicionais ou complementares. Realizadas com o intuito de verificar os benefícios e/ou riscos de determinadas intervenções, promovem a necessidade de adequar uma conduta vigente ou definir uma nova prática ao usufruto da sociedade (BASILE, 2014).

3 JUSTIFICATIVA

O estágio atual do projeto “*Bioconversão de terpenos para a obtenção de agentes anticâncer*” exige um acurado planejamento no desenvolvimento do fármaco, que inclui fundamentalmente a perspectiva da eficácia clínica dos sais de perilato. Para isso, é necessário considerar o escopo terapêutico de algumas moléculas envolvidas no estudo, em especial o limoneno (material de partida), o álcool perílico (oxidação específica ‘parcial’ do limoneno) e ácido perílico (oxidação específica ‘total’ do limoneno) e perilaldeído.

Um grande volume de dados foi gerado, às vezes agregados em várias revisões narrativas, contudo não há disponível qualquer revisão sistemática sobre esse tema. As informações científicas sobre a atividade anticâncer estão esparsas e não há um levantamento sistematizado sobre o efeito anticâncer do limoneno e dos seus derivados perílicos. O estabelecimento do estado da arte neste tema é fundamental para programar ações a serem tomadas em relação à molécula de perilato de sódio, que se trata de uma Nova Entidade Química sintetizada pelo grupo de Farmanguinhos.

Neste momento, o desenvolvimento do projeto sobre o uso do perilato como protótipo de um fármaco será, em parte, fundamentado no potencial terapêutico do álcool perílico e do limoneno – já testados em humanos – considerando-se as evidências da circulação do ácido perílico nos plasmas dos pacientes sob testes (BATHAIE & TAMANOI, 2014).

O uso da revisão sistemática como fonte de evidência para organizar o crescente número de produtos, intervenções e informações científicas vem aumentando rapidamente, substituindo a pesquisa primária nas tomadas de decisão na área da saúde. Comprova isso um levantamento de 2010 que estimou haver aproximadamente 75 novos ensaios clínicos e 11 novas revisões sistemáticas de ensaios publicados por dia (LOPES E FRACOLLI, 2008). Esse movimento se deu pela necessidade de validar os resultados obtidos de pesquisas sobre determinado assunto, assim como subsidiar a tomada de decisões dos profissionais em meio a muitas e complexas informações (BASILE, 2014). A revisão sistemática serve não só para determinar as informações disponíveis sobre um tema, mas para documentar lacunas de conhecimento na literatura. Essas lacunas identificadas pode ser usado para moldar futuras agendas de pesquisa (CAIADO *et al.*, 2016).

A relevância atual da revisão sistemática é tanta que inclusive o Ministério da Saúde (MS) Brasileiro aceita que a descrição de evidências científicas relativas à eficácia, segurança, efetividade e acurácia podem ser apresentadas por revisão sistemática. Isso ocorre quando se visa implantar ou substituir alguma tecnologia em saúde, e está regulamentado pela Portaria

2009 de 2012 do MS, capítulo V, artigo 47, item IId, onde “Aprova o ‘Regimento Interno da Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no Sistema Único de Saúde (CONITEC)’ (BRASIL, 2012).

Assim, uma revisão sistemática dos estudos clínicos sobre a ação anticâncer do limoneno, álcool e ácido perílicos e perilaldeído contribuirá para consolidar o estado da técnica deste tema, e fornecer uma ferramenta útil para gerenciar o processo interdisciplinar de pesquisa e desenvolvimento de um quimioterápico a partir destas moléculas.

Outras ferramentas de atualização de informações sobre o avanço tecnológico dos derivados perílicos com agentes terapêuticos podem complementar e robustecer os objetivos deste estudo, no que concerne a apoiar o projeto em curso na instituição.

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Realizar uma revisão sistemática de ensaios clínicos sobre a eficácia, a segurança e a tolerabilidade do uso do limoneno, álcool perfílico, ácido perfílico e perilaldeído como agentes anticâncer, visando subsidiar tomadas de decisão em projetos de desenvolvimento de quimioterápicos da FIOCRUZ.

4.1.1 Objetivos Específicos

- Planejar a revisão sistemática em forma a cumprir as etapas necessárias para sua realização, iniciando pela formulação da indagação da pesquisa;
- Realizar busca exaustiva em bases de dados e bibliotecas virtuais por artigos científicos publicados sobre os ensaios clínicos referentes à atividade anticâncer do limoneno, ácido perfílico, álcool perfílico e perilaldeído;
- Prospectar estudos clínicos em andamento ou não publicados envolvendo o limoneno, ácido perfílico, álcool perfílico e perilaldeído;
- Sintetizar e comparar os dados sobre a segurança, eficácia e tolerabilidade do limoneno, álcool perfílico, ácido perfílico e perilaldeído no tratamento do câncer extraído dos estudos incluídos na revisão sistemática;
- Avaliar a qualidade dos relatos referentes aos ensaios clínicos incluídos na revisão sistemática;
- Prospectar o cenário atual de possíveis medicamentos contendo derivados perfílicos como princípios ativos (busca na base *Integrity*);
- Atualizar, de maneira breve, o levantamento de patentes relacionadas à terapêutica baseada no limoneno e derivados perfílicos em geral;

5 METODOLOGIA

Toda pesquisa implica o levantamento de dados de variadas fontes, quaisquer que sejam os métodos ou técnicas empregadas. A natureza de pesquisa deste trabalho será classificada como pesquisa bibliográfica, definida como aquela que abrange a literatura já tornada pública em relação ao tema de estudo (MARCONI & LAKATOS, 2007).

O delineamento da pesquisa foi feito por meio das recomendações da ‘Colaboração para Revisões Sistemáticas e Meta-análises’ descritas no “*Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions*” (COCHRANE COLLABORATION, 2011) e no protocolo PRISMA (MOHER *et al*, 2015).

Uma busca preliminar foi realizada para verificar a existência de alguma revisão sistemática sobre o tema de estudo deste trabalho. Para tanto, consultou-se o *Cochrane Database of Systematic Review*³ e no *PubMed Clinical Queries*⁴, para verificar sobre possíveis ocorrências de publicações sobre revisão sistemática no mesmo tema. Os registros de protocolos de revisão sistemática em andamento foram verificados no PROSPERO⁵.

5.1 ROTEIRO METODOLÓGICO

Uma revisão sistemática de literatura foi realizada entre fevereiro de 2017 e fevereiro de 2018, visando obter dados referentes à eficácia e segurança clínica do uso do limoneno, álcool perfílico, ácido perfílico e perilaldeído como agentes anticâncer. O protocolo desta revisão sistemática foi registrado no PROSPERO sob número CDR42018082207 (APÊNDICE A). A Figura 9 detalha o roteiro metodológico deste trabalho, cujas etapas serão desdobradas nos itens subsequentes.

³ <http://www.cochrane.org/cochrane-reviews>

⁴ <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/clinical>

⁵ <https://www.crd.york.ac.uk/prosperto/>

5.2 INDAGAÇÃO DA PESQUISA

A questão (pergunta) de pesquisa é o primeiro passo no desenvolvimento de uma revisão sistemática. A indagação deve ser específica, de relevância científica e formulada de modo sistemático. Uma pergunta de pesquisa que atenda a estes quesitos funciona como um eixo norteador da revisão, na determinação dos critérios de inclusão/exclusão, no método de condução da revisão e na organização do raciocínio lógico (SANTOS, 2007). A estratégia utilizada para elaborar a pergunta da revisão sistemática proposta neste estudo baseou-se nos 6 componentes sintetizados pelo acrônimo PICOS-T, na qual cada letra significa: P = participante, I = intervenção, C = controle, O = desfecho, S = Tipo de estudo e T = Tempo. Os termos do PICOS-T têm por objetivo reproduzir de forma concisa o foco da investigação. No mínimo, dois desses componentes (participante e intervenção – P e I do PICOS-T) são obrigatórios para a sistematização da pergunta da pesquisa (SANTOS, 2007; BASILE, 2014). A figura 10 mostra o acrônimo aplicado ao tema deste trabalho.

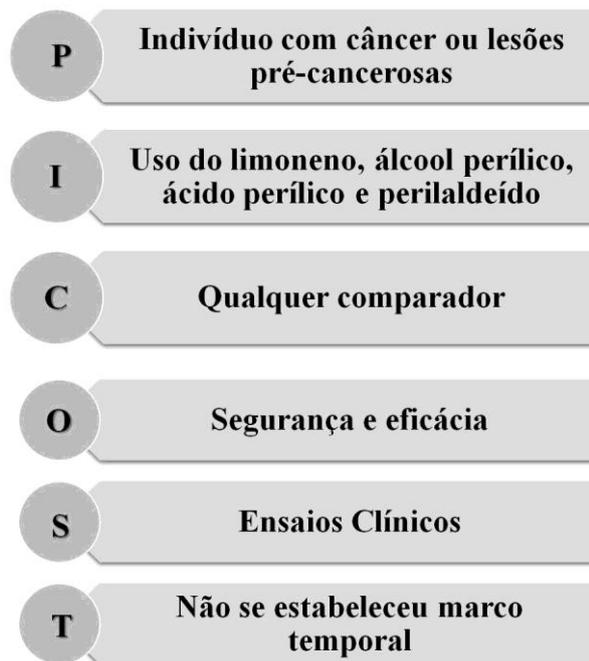


Figura 10 – Acrônimo PICOS-T aplicado ao tema deste trabalho.
Fonte: Elaboração própria.

A partir do PICOS-T, formulou-se a seguinte pergunta para esta revisão sistemática: “Qual é a evidência em humanos que o limoneno, álcool perílico, ácido perílico e perilaldeído são um tratamento efetivo e seguro para câncer (qualquer tipo) e lesão pré-cancerosa?”

5.3 DELINEAMENTO DA PESQUISA

5.3.1. Critérios de Inclusão

Nesta revisão foram incluídos todo e qualquer ensaio clínico com o uso de limoneno, álcool perfílico, ácido perfílico e perilaldeído para tratar pacientes humanos com câncer (qualquer tipo) ou lesões pré-cancerosas.

5.3.2. Critérios de exclusão

Foram excluídos os artigos, após a leitura na íntegra, que tratavam: reporte de caso, revisões sistemáticas, estudos utilizando o limoneno, álcool perfílico, ácido perfílico e perilaldeído conjugadas com outras drogas; estudos de custo efetividade, estudos *in vitro*, *in vivo* e *ex-vivo*, ensaios clínicos farmacocinéticos e ensaios clínicos em animais.

5.4 ESCOLHA DAS BASES DE DADOS PARA BUSCA

5.4.1. Estudos Publicados

A busca foi realizada em 23/11/2017, nas bases de dados e bibliotecas virtuais relacionadas na tabela 6. Entre elas, apenas 3 bases são de acesso gratuito (PubMed, Lilacs e SciELO). As bases Scopus, OVID e Web of Science foram utilizadas por meio do Portal Periódicos Capes⁶. O acesso às bases de dados Embase da *Elsevier* e *The Cochrane Library*, da Colaboração Cochrane, não são gratuitos e não constam na lista da CAPES, mas a FIOCRUZ possui o acesso institucional em suas instalações. Em todas as bases foram utilizadas a opção por busca avançada.

⁶ <http://www.periodicos.capes.gov.br/>

Tabela 6 - Base de dados e bibliotecas virtuais utilizados nas buscas da Revisão Sistemática

BASES DE DADOS E BIBLIOTECAS VIRTUAIS	SITE
PubMed	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed
Embase	https://www.americalatina.elsevier.com/corporate/embase.php
Scopus	https://www.scopus.com
OVID – Medline 1946 to Present with Daily Update	https://ovidsp.ovid.com
Web of Science/ Coleção principal	https://webofknowledge.com
The Cochrane Library	www.cochranelibrary.com
*Lilacs	http://lilacs.bvsalud.org/
*SciELO	http://www.scielo.org/

Fonte: Elaboração própria

*LILACS e SciELO foram adicionados como bases de buscas visando estudos disponíveis em anais de congresso e ampliação da cobertura da busca na América latina, respetivamente.

5.4.2. Estudos não publicados

Uma busca por registro de ensaios clínicos foi realizada nos bancos de dados de registros de ensaios clínicos nacionais e internacionais (tabela 7), em 23/11/2017. No site do ReBEC foram utilizados os seguintes termos: limoneno, álcool perílico, ácido perílico e perilaldeído. Para os demais sites foram utilizados os correspondentes em língua inglesa respetivamente: *limonene*, *perillyl alcohol* ou *perillic alcohol*, *perillic acid* e *perillaldehyde* ou *perillyl aldehyde*. Não foi utilizado nenhum tipo de restritor nas buscas em nenhum dos bancos de registros consultados.

Tabela 7 - Lista de bancos de registros de ensaios clínicos nacionais e internacionais

BANCO DE REGISTROS DE ENSAIOS CLINICOS	SITE
Clinicaltrials.gov	https://clinicaltrials.gov/ ,
ICTRP	http://apps.who.int/trialsearch/
ReBEC	http://www.ensaiosclinicos.gov.br/
NCI	https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/clinical-trials/search

Fonte: Elaboração própria

5.5 DEFINIÇÃO DA ESTRATÉGIA DE BUSCA

As estratégias de busca utilizadas no banco de dados e bibliotecas virtuais constantes na tabela 6 foram três: a primeira para o limoneno, a segunda para o álcool perílico e ácido perílico e a terceira para o perilaldeído, em cada uma das bases e na biblioteca escolhida.

(1) LIMONENE AND (CANCER OR TUMOR OR NEOPLAS* OR ANTICANCER OR ANTITUMOR OR ANTINEOPLAS* OR CYTOTOXICITY)

(2) (PERILLYL OR PERILLIC) AND (CANCER OR TUMOR OR NEOPLAS* OR ANTICANCER OR ANTITUMOR OR ANTINEOPLAS* OR CYTOTOXICITY)

(3) (PERILLALDEHYDE) AND (CANCER OR TUMOR OR NEOPLAS* OR ANTICANCER OR ANTITUMOR OR ANTINEOPLAS* OR CYTOTOXICITY)

No apêndice B encontra-se uma tabela com a versão estendida de cada uma das três estratégias acima descritas.

5.6 SELEÇÃO DOS ESTUDOS PARA A REVISÃO SISTEMÁTICA

Foram realizadas 3 triagens nos artigos obtidos pela busca nos bancos de dados e biblioteca virtual. Os artigos em duplicata foram eliminados utilizando o software gerenciador de referências *My Endnote Web*⁷. Todos os artigos encontrados tiveram primeiramente seus títulos lidos e analisados. Foram excluídos aqueles artigos que tratassem de processos de produção ou síntese química dos compostos alvo da busca, formulação de medicamentos, métodos analíticos de detecção, ensaios *in vitro* e *in vivo* em animais e revisões narrativas.

Em uma segunda triagem, pelos mesmos critérios aplicados ao título, foram analisados os resumos das publicações (*Abstracts*). Quando estes não estavam disponíveis ou não foram claros o suficiente para a tomada de decisão quanto à sua seleção, recorreu-se ao texto integral (terceira triagem). Quando um estudo apareceu dividido em mais de um artigo, optou-se pela versão mais completa. Após cada uma das triagens ou após a eliminação das duplicatas, os artigos foram quantificados.

Foram selecionados os artigos sobre ensaios clínicos utilizando o limoneno, ácido perílico, álcool perílico ou perilaldeído no tratamento do câncer ou lesões pré-cancerosas e estes foram lidos na íntegra. Fizeram parte desta revisão sistemática aqueles estudos que atenderam aos critérios de inclusão descritos no subitem 5.3.1.

⁷ [https:// www.myendnoteweb.com/](https://www.myendnoteweb.com/)

Foram quantificados e estratificados os estudos excluídos, assim como explicados os motivos para tal. A partir desses resultados, foi possível montar o fluxograma, que é um requisito obrigatório para revisões sistemáticas, segundo o protocolo PRISMA (MOHER *et al.*, 2015).

Todas as triagens foram realizadas de forma independente por dois revisores⁸, com as discordâncias sendo resolvidas por consenso.

5.7 EXTRAÇÃO DOS DADOS DOS ESTUDOS ESCOLHIDOS PARA A REVISÃO SISTEMÁTICA

Todos os artigos selecionados foram lidos na íntegra. A extração dos dados foi feita de forma independente por dois revisores, com as informações sendo compiladas em uma planilha no Excel[®] 2007 (*Microsoft*[®]). Essas informações dizem respeito a: referências dos estudos; desenho do estudo (randomização, controle, alocação da intervenção, cegamento); objetivo; país onde foi realizado o estudo; população estudada (quantidade de indivíduos, idade e gênero); fase do estudo clínico; tipo de câncer alvo (estratificação do número de indivíduos); dosagem e via de administração; esquema terapêutico; desfecho de eficácia e segurança: sobrevida global (SG), sobrevida livre de progressão (SLP), tempo até progressão da doença (TTP), sobrevida livre de doença (SLD), taxa de resposta objetiva (TRO), qualidade de vida (QoL) e efeitos adversos; resultados e conclusão.

Os estudos clínicos resgatados pelos bancos de registro também tiveram seus dados extraídos; são eles: número de registro, ano do registro, título do ensaio clínico, fase, país de realização, entidade responsável, publicado ou não, indicação terapêutica, finalizado ou em andamento e resultado se estiver disponível.

A partir dos dados compilados dos registros de estudos clínicos e dos artigos incluídos na revisão sistemática, foi avaliada a possibilidade de se efetuar uma meta-análise.

⁸ Os dois revisores foram: Paula Gomes dos Santos e Dr. Francisco José Roma Paumgarten

5.8 AVALIAÇÃO DE QUALIDADE DOS ESTUDOS E DO RELATO

A qualidade dos estudos elegíveis foi avaliada de acordo com o preconizado pelo *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions* v 5.1 (COCHRANE COLLABORATION, 2011). O ‘risco de viés’ foi avaliado por dois revisores trabalhando de forma independente. Os vieses analisados foram: geração de sequências randômicas, ocultação da alocação, ceguidade dos participantes e dos profissionais envolvidos, ceguidade de avaliadores do desfecho, dados incompletos e relatos seletivos (ANEXO 2).

Para realizar a qualificação dos estudos foi confeccionada uma tabela no Excel[®] versão 2007 da Microsoft[®], na qual cada revisor respondeu a 6 perguntas relacionadas aos vieses acima descritos para cada estudo eleito para revisão. As perguntas são:

1. O estudo descreve o método usado de geração aleatória?
2. O processo de ocultação de alocação dos participantes foi descrito?
3. Os participantes e profissionais envolvidos desconheciam a intervenção aplicada?
4. Os responsáveis pelas análises dos desfechos desconheciam quais eram os grupos intervenção e controle?
5. Os desfechos estão completos?
6. Perdas e/ou exclusões foram descritas ou justificadas?

As repostas para cada uma das perguntas devem ser:

SIM – caso esteja claramente explícito a resposta no texto do artigo;

NÃO – caso seja claramente explícito que não foi realizado;

Não claro – se foi citado no texto, mas não explicado de forma completa;

Não mencionado – quando não há menção sobre o conteúdo da pergunta no texto.

Para um ensaio clínico ser considerado com um viés baixo, todas as perguntas devem ser respondidas com ‘sim’, para um risco de viés alto basta que uma ou mais perguntas sejam respondidas com ‘não’ e para um viés incerto basta que o relato seja insuficiente para julgamento, no caso a resposta deve ser ‘não claro’. Foi considerado que mais de 2 ‘não mencionado’ seria considerado como um ‘não’.

5.9 BUSCA DE INFORMAÇÕES SOBRE MEDICAMENTOS CONTENDO DERIVADOS PERÍLICOS

Foi realizada busca na base de dados do *Integrity*SM⁹ utilizando os seguintes termos em inglês com seus respectivos CAS indicados entre parênteses: *perillyl alcohol* ou *perillic alcohol* (536-59-4), *limonene* (5989-27-5 e 5989-54-8), *perillic acid* (7694-45-3) e *perillaldehyde* ou *perillyl aldehyde* (2111-75-3). As buscas foram realizadas na opção ‘*Quick Access to Key Drugs & Biologics Information*’ ainda na página inicial da base *Integrity*. A busca foi realizada em duas datas: 23/11/2017 e 26/01/2018.

Foram verificadas as seguintes informações: se há algum produto registrado em algum país com alguma dessas substâncias e se havia, qual é a empresa, onde ela está localizada, e para qual finalidade terapêutica foi indicada; se havia patentes; se havia ensaios clínicos relacionados a alguma das substâncias em estudo e os dados destes ensaios clínicos. Os ensaios clínicos obtidos nos bancos de registro consultados conforme subitem 5.4.2 foram comparados com aqueles obtidos pela busca nos bases de dados de publicações e biblioteca virtual, para verificar possíveis duplicações de estudos.

5.10 BUSCA DE PATENTES COM O LIMONENO E SEUS DERIVADOS PERÍLICOS

Durante a execução do ‘projeto perilato’, um levantamento de patentes sobre o assunto que cobriu a anterioridade até o ano de 2014, foi realizado pela coordenação de Gestão Tecnológica (GESTEC) da FIOCRUZ e encaminhada à coordenação do ‘projeto perilato’ em 27/04/2015. Este levantamento está no ANEXO 3.

A atualização de busca das patentes relacionadas ao limoneno e derivados perílicos foram realizadas em 23/11/2018 e 27/01/2018 nas bases de dados: *SciFinder* e *Integrity*. Os termos-chave utilizados pelas buscas foram: “P as anticancer agent”: P = ‘perillyl alcohol’, ‘perillic acid’, ‘perillaldehyde’, ‘limonene’ no *References: Research Topic*, escolhendo-se o conjunto de resultados que continham a íntegra dos termos-chave. A busca foi refinada pelo tipo de documento (*Patent*), seguindo-se de cada ano (um a um) entre 2014 e 2018, para cada molécula em separado. No caso do título da patente não trazer explicitamente o nome do derivado perílico, o texto da patente foi checado no *Google Patents*¹⁰, com a finalidade de localizar a participação da substância de interesse nas reivindicações. A busca na base

⁹ <https://integrity.thomson-pharma.com/integrity/xmlxsl/>

¹⁰ <https://patents.google.com/>

Integrity foi descrita no subitem 5.9. Os dados obtidos foram tabelados no Word[®] 2010 (Microsoft[®]), considerando-se basicamente o registro do pedido prioritário os resumos de cada patente, seus inventores e o patrocinador.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 ELABORAÇÃO DA PERGUNTA E DO DELINEAMENTO DO ESTUDO DESTA REVISÃO SISTEMÁTICA

Foram realizadas buscas preliminares em março de 2017 e atualizadas em novembro de 2017, conforme descrito no item 6 da seção Metodologia. No PROSPERO não foi encontrado nenhum registro de protocolo de revisão sistemática com qualquer das substâncias em foco. No *Cochrane Library* não foi encontrada qualquer revisão sistemática publicada com as substâncias-alvo deste estudo para o tratamento de câncer. Já no *PubMed Clinical Queries*, encontraram-se três publicações de revisão sistemática para o limoneno e duas para o POH, com uma das publicações aparecendo para ambas as substâncias, portanto esta duplicata foi eliminada, resultando em 4 publicações totais. Estes 4 artigos foram apresentados pelo *PubMed Clinical Queries* como revisões sistemáticas, mas uma leitura minuciosa apontou, para os artigos levantados:

- (1) BATHAIE & TAMANOI, 2014: trata de um capítulo de livro sobre o limoneno e o POH, caracterizando-se, portanto, como uma revisão narrativa: em nenhum momento foi explicitada a metodologia utilizada para realizá-la (quais bases de dados ou a estratégia de busca utilizada) ou apresentado um fluxograma de triagem para os artigos;
- (2) WHYSNER & WILLIAMS, 1996: é uma revisão narrativa sobre avaliação de risco do D-limoneno focando em citotoxicidade absoluta, aumento da proliferação celular e promoção de tumores. Pelo mesmo motivo anterior, não pode ser considerada revisão sistemática.
- (3) LARIBI *et al.*, 2015: outra revisão narrativa, desta vez sobre a planta *Coriandrum sativum L.*, que possui o limoneno entre seus constituintes; com foco nas suas várias aplicações terapêuticas. Pelo mesmo motivo das 2 publicações acima, não pode ser considerada sistemática.
- (4) PETERSON *et al.*, 2014: Trata de uma revisão sistemática cuja indagação da pesquisa envolvia ‘medicamentos utilizados por via inalatória podem tratar câncer cerebral’ e, no caso, o POH está incluído entre elas.

A existência desta revisão não impugna a realizada neste estudo, visto que as indagações-base de pesquisa são bem diferentes nos dois casos.

Com a estratégia PICOS-T foi possível definir a indagação da pesquisa desta revisão sistemática, porque a partir dela foi possível delinear os elementos obrigatórios para compor uma pergunta bem definida e clara; observando que esta é uma condição primordial para a realização de uma revisão sistemática.

Outro ponto importante para a realização de uma revisão sistemática, em que a utilização da estratégia PICOS-T foi essencial, foi a definição do critério de inclusão. Este foi pensado para ser o mais amplo possível, contudo sem perder a força de evidência. Nesta abordagem, foram então incluídos quaisquer ensaios clínicos realizados para as 4 substâncias-alvo deste estudo, o que incluiu os ensaios clínicos não controlados, nem randomizados ou cegados, lembrando que ensaios clínicos randomizados e controlados são o padrão-ouro na hierarquia do nível de evidência científica.

Esta decisão foi tomada em função de nossa busca preliminar de ensaios apontar a não existência de ensaios clínicos randomizados, controlados e cegados para qualquer das substâncias em estudo. Com isso a letra **S** e **C** do acrônimo PICOS-T ficaram respectivamente ensaios clínicos e qualquer comparador, avaliou-se considerar apenas o limoneno, POH, POOH e PAH para tratamento de neoplasias, mas na busca preliminar foram encontrados dois estudos clínicos, um de fase I e outro de fase II, utilizando o POH para tratar ceratose actínica que é uma lesão cutânea que pode levar ao câncer (STRATTON *et al.*, 2008; STRATTON *et al.*, 2010). A partir desse achado, sobre o potencial do POH estar sendo também testado neste alvo, optou-se por incluir o tratamento de lesões pré-cancerosas na caracterização da população de estudo correspondente à letra **P** do acrônimo PICOS-T.

A partir do momento, com a definição da indagação da pesquisa, os critérios de inclusão foram estabelecidos e foi possível elaborar as estratégias de buscas nas bases de dados ou biblioteca virtual listadas na tabela 6 do subitem 5.4.1. Para tal, foram elaboradas três estratégias de buscas em inglês ou traduzidas para o português (no caso do Lilacs e do Scielo). Cada uma se divide em duas partes, sendo conectadas pelo operador booleano AND: 1ª parte consiste no nome da substância-alvo e a 2ª, em sinônimas para câncer.

A estratégia nº 1 buscou artigos para o limoneno e a nº 3 para o PAH. A estratégia nº 2 pretendeu resgatar artigos tanto para o POH quanto para o POOH, já que existem mais de uma sinônimo para cada um deles, ou seja, tanto pode ser *perillic acid* quanto *perillyl acid* e, para o POH, *perillic alcohol* ou *perillyl alcohol*. Isso tornou a busca mais viável quando realizada para POH e POOH juntos e a divisão entre os artigos que tratam de cada um deles serem feitos manualmente. Já se esperava resgatar, com a estratégia 2, artigos com o PAH, mas optou-se por uma terceira estratégia porque ele também apresenta a sinônimas de

‘perillaldehyde’, além daquelas que utilizam os termos (PERILLYL OR PERILLIC). Isso evitaria a não captura de informações para uma palavra-chave que não apresenta o radical mais comum. Não se utilizou ‘*clinical trial*’ como termo de busca, numa iniciativa para evitar a limitação do escopo dos resultados.

6.2 BUSCA PELOS ESTUDOS CLÍNICOS DO LIMONENO, ÁLCOOL PERÍLICO, ÁCIDO PERÍLICO E PERILALDEÍDO

A busca pelas publicações de ensaios clínicos para a realização de uma revisão sistemática deve ser a mais abrangente possível, para tanto deve-se obter artigos indexados, os não indexados, os estudos não publicados ou mesmo os em andamento. Para minimizar o risco de viés de publicações, uma revisão sistemática deve apresentar um busca mais otimizada (estratégias de buscas bem planejadas e diversas fontes para a busca), lembrando que todas as etapas devem ser bem documentadas para permitir sua replicação por qualquer pessoa (SANTOS, 2007).

A principal fonte de identificação de publicações são bases eletrônicas de dados (SANTOS, 2007). Neste trabalho optou-se pela procura em bases eletrônicas de dados (PubMed, Embase, Ovid, Scopus, *Web of Science*, *The Cochrane Library* e Lilacs) e biblioteca virtual (SciELO), a procura por publicações indexadas. O Lilacs também é uma fonte de anais de congresso, com isso uma possível fonte de literatura não publicada.

Escolheu-se 6 bases de dados gerais, aquelas que abordam grandes áreas do conhecimento, são elas: PubMed, Embase, Ovid, Scopus, *Web of Science* e Lilacs; 1 biblioteca virtual que também é geral e 1 base de dados específica, no caso o *The Cochrane Library* que só publica revisões sistemáticas.

Realizou-se um panorama das publicações encontradas. Os gráficos A, B e C presentes na figura 11 apresentam o número de artigos obtidos em cada base de dados ou biblioteca virtual (tabela 6) utilizando cada uma das 3 estratégias de busca descritas no subitem 5.5 da metodologia. O gráfico A representa os artigos obtidos para a estratégia de busca 1 que compreende teoricamente artigos sobre limoneno, o B corresponde ao álcool perílico e ácido perílico e o C ao perilaldeído. Observou-se que tanto na estratégia 1 quanto na 2 (gráficos A e B), as bases que trouxeram um maior quantitativo de artigos foi a Scopus em primeiro lugar seguida da *Web of Science* e Ovid. No gráfico C, o ranking se mantém, apenas inverteu-se o primeiro e segundo lugar.

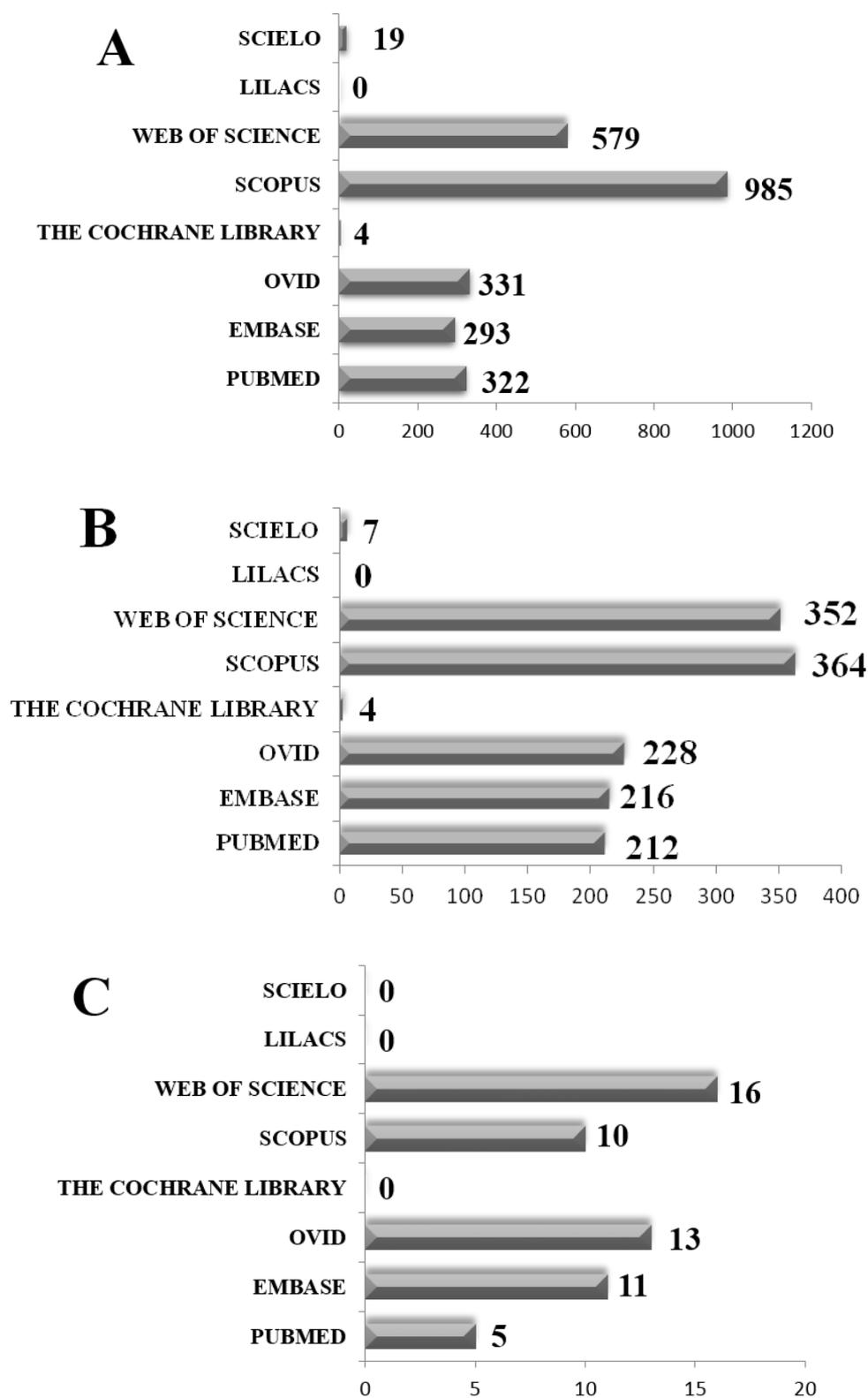


Figura 11 – Porcentagem de artigos obtidos em cada banco de dados ou biblioteca virtual (tabela 6, metodologia subitem 5.4.1) por meio das estratégias de buscas descritas no subitem 5.5 da metodologia.

LEGENDA: A – Limoneno; B –POH (álcool perfílico) e POOH (ácido perfílico); C – PAH (perilaldeído).

Fonte: Elaboração própria

Ao realizar uma estratificação dos tipos de estudos obtidos pelas buscas nas bases de dados e biblioteca virtual com todas as 3 estratégias de buscas utilizadas, verificou-se que a maior parte dos artigos resgatados eram ensaios *in vitro* e revisões narrativas, somados estes dois tipos de estudo correspondem a quase 75% do total de artigos. A primeira revisão narrativa relacionada a câncer publicada para o limoneno foi em 1968 e para o POH foi em 1994, confirmando que os estudos envolvendo esta substância tiveram início bem antes do POH; todavia, mesmo assim o POH apresenta maior quantitativo de ensaios clínicos.

Não foi realizada uma estratificação dos estudos clínicos obtidos por cada base ou biblioteca virtual, no sentido de demonstrar a relevância de cada uma para o tema, porque aqueles apareceram em todas as 5 bases de dados gerais: PubMed, Embase, Ovid, Web of Science e Scopus; por isso no *My EndNote online* (gerenciador de referência) sempre havia 5 cópias dos ensaios clínicos, uma para cada base. Na hora da eliminação das duplicatas realizada pelo *My EndNote online*, manteve-se a cópia do estudo clínico da base que oferecia o maior número de informações sobre o artigo, por exemplo algumas bases não permitem exportar o *abstract* do artigo para o gerenciador de referência. A Scopus trazia a informação do tipo de artigo em questão, se era por exemplo um artigo de revisão, portanto foi a eleita. Com isso, ao analisar o percentual de estudos clínicos obtido por cada base de dados, invariavelmente a Scopus ficaria com 100% e as outras bases com 0%, o que daria uma falsa alegação de maior relevância quanto a busca de ensaios clínicos desta base em relação as demais.

O fato de todas as bases acima citadas resgatarem todos os ensaios clínicos mostra que o *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions* (COCHRANE COLLABORATION, 2011) está certo em recomendar que sejam utilizadas para busca de ensaios clínicos para uma revisão sistemática.

6.3 TRIAGEM DOS ARTIGOS A SEREM UTILIZADOS NA REVISÃO SISTEMÁTICA

- 6.3.1. Artigos publicados obtidos em buscas nas bases de dados e biblioteca virtual (metodologia subitem 5.4.1) com as estratégias descritas (metodologia item 5.5)

Em 23/11/2017, o processo de busca foi realizado utilizando as 3 estratégias de busca descrita na seção 5.5 nas bases descritas na tabela 6 seção 5.4.1. Para cada uma das estratégias de busca foi confeccionado um fluxograma próprio.

Com a primeira estratégia de busca, correspondente ao limoneno, conforme ilustrado na figura 12, obtiveram-se 2533 referências potencialmente relevantes. Foram eliminadas pelo gerenciador de referências *My EndNote online* 1421 duplicatas, restando 1112 referências para verificação (leitura) de título. Nesta fase (primeira fase da triagem), eliminaram-se 630 referências que deixavam claras no título não tratarem de ensaios clínicos. Tiveram lidos seus resumos 482 referências, das quais 473 foram eliminadas por não se enquadrarem no critério de inclusão (segunda fase da triagem). Restaram 9 referências que tiveram seus textos lidos na íntegra, das quais 8 foram eliminadas (terceira fase da triagem). No apêndice C, consta um quadro com as lista de referências excluídas da revisão sistemática com sua respectiva justificativa.

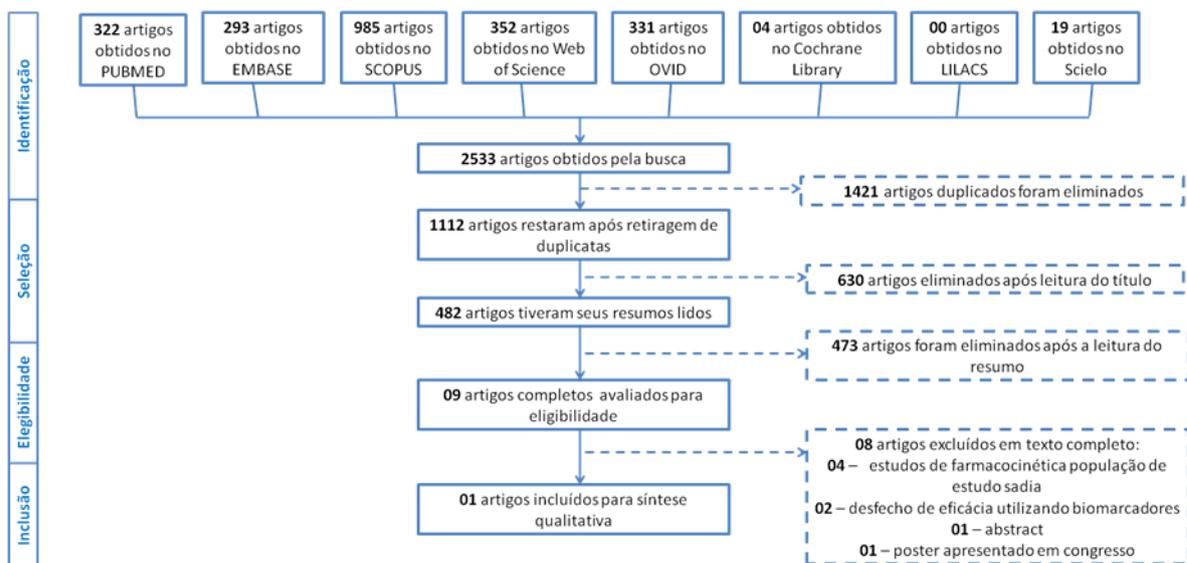


Figura 12 – Fluxograma da triagem dos ensaios clínicos para a revisão sistemática do limoneno.

Fonte: Elaboração própria.

Para POH e POOH, foram resgatadas 1383 referências, com a segunda estratégia de busca. Após a retirada de duplicatas pelo *My EndNote online* sobraram 477 referências. Estas referências tiveram seus títulos lidos, eliminando-se 223 referências após esta primeira triagem. Uma segunda triagem foi realizada, quando foram analisados os resumos das 289 referências restantes, das quais 263 foram eliminadas, sobrando 26 referências para terem seus textos lidos na íntegra. Foram excluídas então 06 referências, o que incluiu 3 publicações baseadas num mesmo estudo. As justificativas para exclusão estão listadas no apêndice C.

Assim, a revisão sistemática incluiu 20 referências, como mostra a figura 13. Não foram encontrados ensaios clínicos com o POOH, portanto todas as 20 referências correspondem ao POH.

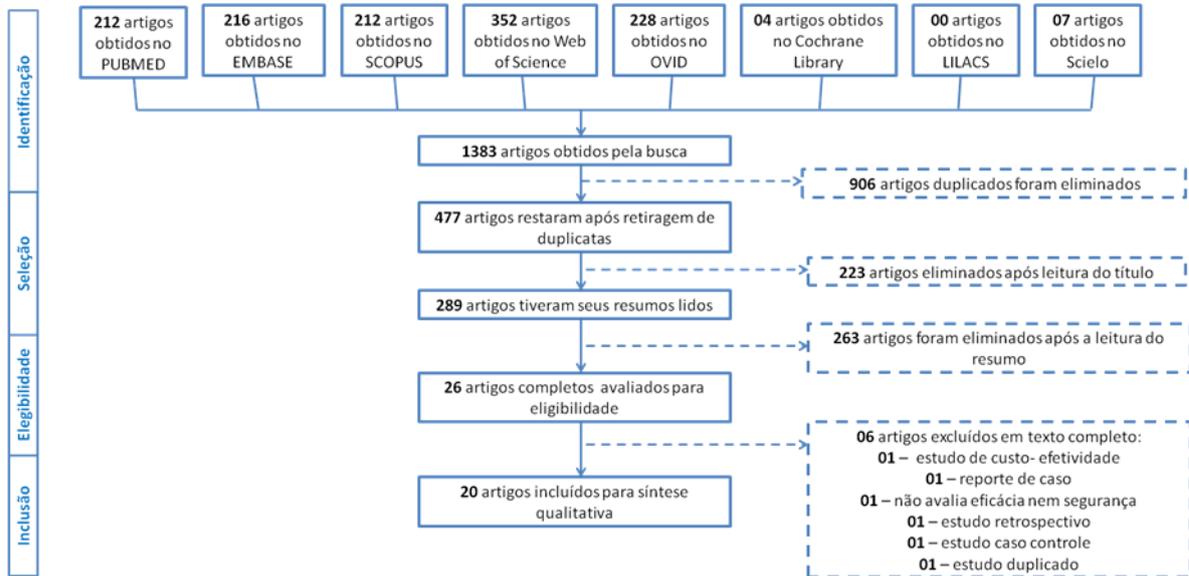


Figura 13 – Fluxograma da triagem dos ensaios clínicos para a revisão sistemática do POH
Fonte: Elaboração própria.

Não foi encontrado qualquer ensaio clínico com o PAH, como mostra a figura 14. Nas buscas utilizando a terceira estratégia, correspondente ao PAH, obtiveram-se 65 referências, das quais 47 foram eliminadas pelo *My EndNote online* por serem duplicatas. Com isso, 18 referências tiveram seus títulos lidos e todas elas foram eliminadas por não estarem dentro do critério de inclusão.

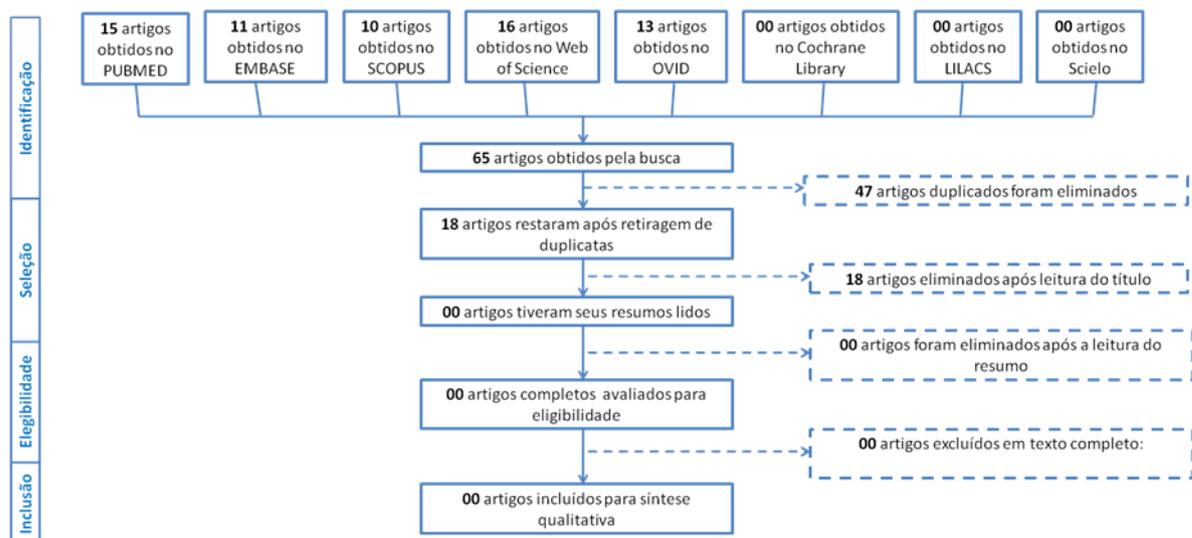


Figura 14 – Fluxograma da triagem dos ensaios clínicos para a revisão sistemática do PAH
Fonte: Elaboração própria.

6.3.1.1. Seleção dos artigos do estudo da administração intranasal do POH para câncer no cérebro

Foram encontrados nas buscas 8 artigos sobre um único estudo clínico utilizando o POH por via inalatória para tratar câncer no cérebro, desenvolvido por um grupo de pesquisa brasileiro sediado na Universidade Federal Fluminense (UFF). Este fato trouxe dúvidas quanto a se considerar um artigo representando a íntegra do conjunto de artigos; ou se cada artigo seria considerado, para efeito da revisão, com um estudo clínico individual.

Ao analisar as informações obtidas de cada artigo, verificou-se que dois artigos citavam os mesmos resultados publicados em revistas diferentes em anos diferentes; portanto apenas um dos dois seria considerado para a revisão (eliminado = DA FONSECA *et al.*, 2008a). O estudo de Da Fonseca e colaboradores (2009) afirma, em sua metodologia, tratar-se de um estudo retrospectivo (observacional). Isso não condiz com o conceito de ensaio clínico (intervencional), que é prospectivo, e por isso também foi eliminado. O estudo de Silva e colaboradores (2013) foi eliminado por se definir, na metodologia, como caso-controle, o que é um tipo de estudo que não se encaixa dos nossos objetivos da revisão sistemática proposta.

Ao todos, deste conjunto de 8 artigos, foram eliminados 3, e 5 foram eleitos para compor a revisão sistemática.

6.3.2. Estudos obtidos através das buscas na base de registros de ensaios clínicos (metodologia 5.4.2)

Quanto à busca por estudos clínicos não publicados para as substâncias períflicas em foco nesta dissertação, optou-se por prospectar as bases de registro de ensaios clínicos como forma de se minimizar o viés de publicação para a revisão sistemática. A escolha foi baseada na combinação entre a relevância e a abrangência das bases, que foram: *clinicaltrials.com*, ICTRP, ReBEC e NCI.

O *clinicaltrials.gov*, administrado pela NIH *National Library of Medicine* (NLM) dos EUA, é a maior base de registro de ensaios acessível ao público e a única com um banco de dados de resultados disponíveis.

A ICTRP é uma plataforma que importa regularmente informações de estudos clínicos de outras bases de registros oficiais de vários países a ela afiliada, hoje ao todo são 17 bases; conseqüentemente uma busca nesta plataforma ampliaria as chances de encontrar ensaios clínicos de países como Irã, Sri Lanka e alguns países africanos, ampliando a abrangência da busca.

Uma vez que a atual revisão tem o propósito de suportar decisões de um grupo brasileiro de pesquisa, uma busca no banco de registro nacional brasileiro, o ReBEC, contemplaria o cenário nacional de ensaios clínicos. Esta base está inserida no ICTRP, onde é mensalmente atualizada. Uma vez que esta atualização pode causar alguma discrepância de dados, optou-se por efetuar as buscas também no ReBEC.

O *National Cancer Institute* (NCI) requer registro de todos os testes clínicos por eles financiados (RIPPLE *et. al.*, 1998). No presente estudo, a maior parte dos artigos encontrados até o momento referiu-se a cooperações com o NCI.

A tabela 8 resume os estudos clínicos envolvendo limoneno e derivados perílicos encontrados nas bases de registros acima mencionadas.

Tabela 8 - Estudos clínicos registrados para o limoneno, álcool perílico nos bancos de registros oficiais nacionais e internacionais

LIMONENO	
Bases de Registros de Ensaios Clínicos	Nº de ensaios Clínicos registrados
ICTRP	5
<i>clinicaltrials.gov</i>	5
ReBEC	0
NCI	1
ÁLCOOL PERÍLICO	
Bases de Registros de Ensaios Clínicos	Nº de ensaios Clínicos registrados
ICTRP	10
<i>clinicaltrials.gov</i>	8
ReBEC	2
NCI	1

Fonte: Elaboração própria

Ao todo foram encontrados 18 estudos clínicos registrados: 7 estudos com o limoneno e 11 com o álcool perílico (POH). Nenhum estudo clínico foi encontrado com o ácido perílico (POOH) ou perilaldeído (PAH) em qualquer das bases acima prospectadas.

Em 2 estudos clínicos encontrados para o limoneno, não havia a indicação terapêutica para o câncer (dentifrício branqueador, tratamento da azia e queimação e teste de alergia); em 1 estudo foi pesquisado seu papel na prevenção do câncer de mama. Em outros 2 estudos, o limoneno foi utilizado como placebo, no primeiro contra um agente antiviral para o tratamento do papiloma vírus humano e, no segundo, contra gemcitabina, paclitaxel e metformina para tratar câncer pancreático que não pode ser retirado por cirurgia. Também para o POH houve um estudo clínico que tratava da sua eficiência quando incorporado a uma resina para obturação dentária.

No total, apenas 5 estudos foram alocados fora do Estados Unidos. Dois estudos clínicos com o POH foram efetuados no Brasil (administração intranasal para pacientes com glioblastoma), 1 com o limoneno na China (dentifrício branqueador), outro na Bélgica (como placebo) e um terceiro na Dinamarca (teste de alergia ao contato tópico diário em baixas doses com o *R*-Limoneno). O estudo mais avançado é representado pelo limoneno como dentifrício branqueador, que se encontra na fase 4 (pós-mercado). Todos os registros são feitos na língua inglesa, independente do país em que o ensaio clínico é realizado. Por isso, foram mantidos neste idioma na tabela 9.

Um dos registros de ensaio clínico para o limoneno ter provável correspondência com o estudo publicado por Miller e colaboradores (2013) na revista *Cancer Prevention Research* (linha 4 da tabela 9). Dois outros estudos com limoneno ainda estão em fase de recrutamento (linha 1 e 6 da tabela 9) e, por esse motivo, não possuem publicações relacionadas. Os artigos referentes aos restantes 3 estudos (linhas 3, 5 e 7 tabela 9) não responderam à busca e, portanto, não foram obtidos.

Para o POH, foram encontrados artigos publicados correspondentes a 5 dos estudos clínicos registrados, contudo 3 estudos ainda estão em fase de recrutamento. O estudo clínico utilizando POH pela via tópica é o único cujos resultados estão diretamente disponíveis no site do *clinicaltrials.com*. Assim, no cômputo total, não foi possível correlacionar 5 dos registros de ensaios clínicos com publicações, 3 para o limoneno e 2 para o POH.

Contudo, convém notar que todos os artigos referentes a estudos em câncer foram efetivamente obtidos nas buscas efetuadas no conjunto de bases utilizado na metodologia. Ou seja, para o POH, não foram encontrados estudos clínicos que não houvessem sido publicados. Contudo, foram encontrados artigos sobre ensaios clínicos sem registros nas bases de registros de estudos clínicos, sobretudo para o limoneno.

Dada a relevância para os objetivos de revisões sistemáticas, a questão do resgate de artigos descritivos dos estudos clínicos a partir do registro destes nas bases da tabela 6 tem

sido abordada por alguns autores (BASHIR *et al.*, 2017; DUNN *et al.*, 2017), que identificam as melhores maneiras de obter sucesso nessas buscas.

Ainda, é relevante mencionar que Rising e colaboradores (2008) observaram que apenas 40% dos ensaios clínicos oriundos da indústria são publicados, contra 56% dos ensaios patrocinados por entidades governamentais, centros de pesquisa e universidades. Uma tendência parecida foi constatada no presente estudo.

Tabela 9 – Descrição dos estudos clínicos registrados nas bases de registros da metodologia subitem 5.4.1

LIMONENO						
Título	Data de registro	Base encontrada	Responsável	Localização	Patrocinador	Publicação
<i>Low Dose Exposure to Oxidized R-limonene - A Double Blinded Vehicle Controlled Repeated Open Application Test (ROAT) Study</i>	03/10/2017	ICTRP <i>ClinicalTrials.gov</i>	Niels Højsager Bennike	Gentofte University Hospital Sahlgrenska University Hospital	Herlev and Gentofte Hospital University of Copenhagen Sahlgrenska University Hospital Göteborg University	N
<i>4V2 Antiviral Spray Versus Placebo in Human Papillomavirus Cervix Infections</i>	19/06/2012	<i>ClinicalTrials.gov</i>	Não declarado	Labo Riatol	Cesa Projects International	N
<i>Human Breast Tissue Bioavailability of Topically Applied Limonene</i>	20/10/2011	ICTRP <i>ClinicalTrials.gov</i>	Sherry Chow	<i>The University of Arizona Cancer Center</i>	<i>University of Arizona United States Department of Defense</i>	N
<i>Limonene Study in Women With Breast Cancer</i>	08/01/2010	ICTRP <i>ClinicalTrials.gov</i>	Sherry Chow	<i>Arizona Cancer Center</i>	<i>University of Arizona NCI</i>	S
<i>The effect of a whitening dentifrice containing d-limonene on natural extrinsic tea/tobacco stain in a clinical trial</i>	26/12/2008	ICTRP	Hao Yuqing	Não informado	<i>State Key Laboratory of Oral Diseases</i>	N
<i>Gemcitabine Hydrochloride, Paclitaxel Albumin-Stabilized Nanoparticle Formulation, Metformin Hydrochloride, and a Standardized Dietary Supplement in Treating Patients With Pancreatic Cancer That Cannot be Removed by Surgery</i>	06/01/2015	<i>ClinicalTrials.gov</i> NCI	Vincent Chung	<i>City of Hope Medical Center City of Hope South Pasadena</i>	<i>City of Hope Medical Center NCI</i>	N
<i>A randomised double blind placebo controlled study to evaluate the effectiveness of purified d-Limonene as an agent to relieve the symptoms of indigestion and "heartburn"</i>	16/08/2007	ICTRP	John Heggens	Não informado	<i>WRC Laboratories LP</i>	N

ÁLCOOL PERÍLICO						
Título	Data de registro	Base encontrada	Responsável	Localização	Patrocinador e Colaboradores	Publicação
<i>Evaluation of inflammatory substances in the blood of patients with recurrent glioblastoma in treatment with inhalation of perillyl alcohol associated with reduced carbohydrate diet and supplementation with omega 3</i>	24/01/2018	ICTRP ReBEC	Clóvis O. P. da Fonseca	Hospital Universitário Antônio Pedro	Hospital Universitário Antônio Pedro	N
<i>Low sugar diet combined with nasal administration of perillyl alcohol: strategy therapy for resistant Glioblastoma Multiforme to chemotherapy and radiotherapy</i>	21/07/2016	ICTRP ReBEC	Clóvis O. P. da Fonseca	Hospital Universitário Antônio Pedro	Hospital Universitário Antônio Pedro	N
<i>Safety and Efficacy Study in Recurrent Grade IV Glioma</i>	27/01/2016	ICTRP ClinicalTrials.gov NCI	Tom Chen	University of Southern California Cleveland Clinic Florida Cleveland Clinic University of Washington Seattle Cancer Care Alliance University of Wisconsin Hospital and Clinic	NEONC Technologies ClinDatix, Inc.	N
<i>Postoperative Hypersensitivity Randomized Comparative Effectiveness Research Trial POH RCERT</i>	19/10/2010	ICTRP	Frederick A Curro	EUA	Pearl Network	N
<i>Topical Perillyl Alcohol in Treating Patients With Sun Damaged Skin and Actinic Keratoses</i>	05/02/2008	ICTRP ClinicalTrials.gov	Steve Stratton	Arizona Cancer Center at University of Arizona Health Sciences Center	University of Arizona NCI Arizona Disease Control Research Commission	S
<i>Natural Supplements and a Special Diet in Eliminating Cancer-impacting Hormones From Sources Outside the Body in Patients With Early-Stage or Remission Prostate Cancer, Breast Cancer, or Uterine Cancer</i>	29/05/2009	ClinicalTrials.gov	Richard E. Lasker	Brabant Research	Brabant Research Incorporated	N

ÁLCOOL PERÍLICO						
Título	Data de registro	Base encontrada	Responsável	Localização	Patrocinador e Colaboradores	Publicação
<i>Perillyl Alcohol in Preventing Recurrent Breast Cancer in Women who Have Been Treated With Surgery With or Without Adjuvant therapy</i>	10/08/2001	ICTRP <i>ClinicalTrials.gov</i>	George Thomas Budd	<i>Cleveland Clinic Taussig Cancer Center</i>	<i>The Cleveland Clinic NCI</i>	N
<i>Perillyl Alcohol Followed by Surgery in Treating Patients with Stage II or Stage III Pancreatic Cancer</i>	01/11/1999	ICTRP <i>ClinicalTrials.gov</i>	Patrick J. Loehrer	<i>Indiana University Cancer Center</i>	<i>Indiana University School of Medicine NCI</i>	S
<i>Perillyl Alcohol in Treating Patients With Metastatic Breast Cancer</i>	01/11/1999	ICTRP <i>ClinicalTrials.gov</i>	Howard H. Bailey	<i>University of Wisconsin Comprehensive Cancer Center</i>	<i>University of Wisconsin NCI</i>	S
<i>Perillyl Alcohol in Treating Patients With Metastatic Prostate Cancer that has Not Responded to Hormone Therapy</i>	01/11/1999	ICTRP <i>ClinicalTrials.gov</i>	George Wilding	<i>Leonard C. Ferguson Cancer Center Green Bay Oncology Ltd. Mercy Health System Gundersen Lutheran Medical Center Meriter Hospital University of Wisconsin Comprehensive Cancer Center Sinai Samaritan Medical Center North Central Oncology Associates</i>	<i>University of Wisconsin NCI</i>	S
<i>Perillyl Alcohol in Treating Patients With Refractory Cancer</i>	01/11/1999	ICTRP <i>ClinicalTrials.gov</i>	John R. Murren	<i>Yale Comprehensive Cancer Center</i>	<i>NCI</i>	S

LEGENDA: S – possui publicação e N – não foi encontrada publicação.

Fonte: Elaboração própria

6.4 DESCRIÇÃO DOS ARTIGOS SELECIONADOS PARA A REVISÃO SISTEMÁTICA

A tabela 10 relaciona os artigos escolhidos a partir dos critérios de inclusão descritos na metodologia (subitem 5.3.1) para compor esta revisão sistemática. Os estudos POH-05, POH-07 e POH-10 tiveram analisados apenas os desfechos de segurança porque seus desfechos de eficácia não fazem parte dos descritos na metodologia (subitem 5.7).

Tabela 10 – Listagem dos artigos selecionados para revisão sistemática.

NÚMERO	REFERÊNCIA
LIM-01	VIRGUSHIN <i>et al.</i> , 1998
POH-01	DA FONSECA <i>et al.</i> , 2016
POH-02	DA FONSECA <i>et al.</i> , 2013
POH-03	DA SILVEIRA <i>et al.</i> , 2012
POH-04	DA FONSECA <i>et al.</i> , 2011
POH-05	STRATTON <i>et al.</i> , 2010
POH-06	MATOS <i>et al.</i> , 2008
POH-07	STRATTON <i>et al.</i> , 2008
POH-08	DA FONSECA <i>et al.</i> , 2008b
POH-09	BAILEY <i>et al.</i> , 2008
POH-10	STEARNS <i>et al.</i> , 2004
POH-11	BAILEY <i>et al.</i> , 2004
POH-12	LIU <i>et al.</i> , 2003
POH-13	MORGAN-MEADOWS <i>et al.</i> , 2003
POH-14	AZZOLI <i>et al.</i> , 2003
POH-15	MORGAN-MEADOWS <i>et al.</i> , 2002
POH-16	BAILEY <i>et al.</i> , 2002
POH-17	MURREN <i>et al.</i> , 2002
POH-18	HUDES <i>et al.</i> , 2000
POH-19	RIPPLE <i>et al.</i> , 2000
POH-20	RIPPLE <i>et al.</i> , 1998

Fonte: Elaboração própria.

Embora o limoneno tenha sido o primeiro monoterpene a ser estudado para o tratamento do câncer (o primeiro artigo encontrado é de 1965), poucos estudos clínicos foram realizados com ele, quando comparado com o POH. Isso provavelmente se deve ao incentivo oferecido pelo NCI na década de 1990, tendo como alvo o desenvolvimento de um medicamento com o POH (NCI-DCPC, 1996). Corroborar isso o fato que, excluindo os estudos realizados no Brasil pelo Dr Clóvis Orlando da Fonseca (que utiliza POH

intranasalmente para tratar glioblastoma), todos os outros estudos que fazem parte desta revisão sistemática para o POH foram financiados pelo NCI e conduzidos nos EUA.

Os primeiros estudos clínicos com POH foram iniciados em 1995. Para o POH, vários pesquisadores iniciaram estudos fase I, incluindo *screening* para verificar atividade antineoplásica para diferentes tipos de câncer, além de estudos de farmacocinética, farmacodinâmica e toxicidade. Com o passar dos anos, os ânimos iniciais arrefeceram, com poucos estudos de fase II realizados, e nenhum de fase III. Os primeiros estudos clínicos publicados para o POH e o limoneno datam de 1998, e os mais recentes de 2016 e 2015, respectivamente.

Não foram encontrados artigos de estudos clínicos de fase III. Como mostra o quadro 1, os artigos são todos das fases iniciais da pesquisa clínica: 9 de fase I, 4 de fase II e 5 de fase I/II. O desenho de estudo de ensaios clínicos para antineoplásicos é um pouco diferenciado, admitindo-se utilizar na fase I, indivíduos com câncer e não-sadio, conforme preconizado, devido principalmente à toxicidade dos medicamentos para câncer. Além disso, nesta fase não há um foco em um tipo de câncer específico, com a participação de indivíduos com diferentes tipos de câncer, geralmente em estágio avançado e refratários ao tratamento padrão (LE TOURNEAU *et al.*, 2009). Os estudos de fase I do POH (POH-06, POH-10, POH-11, POH-13, POH-14, POH-17, POH-18, POH-19 e POH-20) foram realizados em indivíduos com câncer em diferentes localidades; já com o limoneno (LIM-01) foi testado para câncer de mama e colorretal. Existem ensaios clínicos de fase I para o limoneno (CROWELL *et al.* 1994; CHOW *et al.*, 2002; SCHIMIDT & GÖEN, 2016) que utilizaram indivíduos sadios, devido ao fato dele ser considerado GRAS.

Os estudos clínicos fase I para câncer são geralmente braço único, abertos e com um pequeno número de indivíduos (LE TOURNEAU *et al.*, 2009). É possível observar essa tendência nos estudos de fase I desta revisão tanto para o POH quanto para o limoneno, excetuando-se os estudos com o POH para tratar gliomas, no qual se conseguiu recrutar um número maior de indivíduos. Ressalte-se que este vem sendo realizado desde 2006. O estudo POH-06 terminou seu recrutamento precocemente devido a problemas com o fornecedor do medicamento, o que levou a concluir o estudo com 7 indivíduos.

Os estudos de fase II em oncologia são tradicionalmente abertos e de braço único, e diferenciam-se dos estudos de fase I porque utilizam um quantitativo de indivíduos maior e também por serem realizados para um único tipo de câncer (ANANTHAKRISHNAN & MENON, 2013). Na presente revisão, os estudos de fase II levantados referiram-se a tratamentos de câncer de mama, colorretal, próstata, ovário e gliomas malignos (I/II).

A via de administração prioritariamente utilizada é a via oral em 13 dos estudos para o POH e no único estudo para o limoneno. Houve 2 estudos de fase I e II utilizando o POH por via tópica para tratar lesões pré-cancerosas e 5 estudos de fase I/II utilizando POH por via inalatória para tratar gliomas malignos.

Por via oral, foram utilizadas cápsulas gelatinosas de D-limoneno e POH, não sendo especificado qual o isômero ótico deste último (D ou L). Ao todo, foram utilizadas em 3 apresentações para o POH (250 mg, 700 mg e 1200 mg). Para a menor dose, conforme desenvolvida pelo NCI e utilizada em 9 dos estudos, a formulação foi 250 mg POH + 250 mg óleo de soja. As outras duas apresentações não tiveram suas formulações descritas quanto à composição. O POH na maior dose foi utilizado em 1 estudo (POH-06) e a dose média em 2 estudos (POH-13 e POH-15). O limoneno teve a única apresentação de 400 mg com a formulação D-limoneno/óleo vegetal hidrogenado/etilcelulose numa concentração 1:0,08:0,12. Existem 2 ensaios clínicos excluídos para o limoneno que utilizaram diretamente a ingestão de suco de limão (CHOW *et al.*, 2002; MILLER *et al.*, 2010).

Sete estudos comparam a utilização do POH com um controle. Os estudos POH-04, POH-06 e POH-16 fizeram uso de um controle histórico. O estudo POH-10 utilizou como grupo controle indivíduos que não aceitaram participar da intervenção, porém preenchiam os critérios de inclusão. Já POH-03 utilizou amostras de sangue de doadores do HEMORIO e os POH-07 utilizou os próprios indivíduos testes como controle (um braço recebeu placebo e o outro braço o creme com POH). POH-05 utilizou um grupo controle concorrente. Apenas os estudos POH-05 e POH-07 são duplo-cegos e também randomizaram a distribuição dos indivíduos entre os grupos controle e POH. POH-11 também randomizou seus indivíduos em dois grupos para testes farmacocinéticos: alimentados x jejum.

Nove estudos fizeram escalonamento de dose, dos quais 4 forneceram a máxima dose tolerada (MDT) dentro de relativamente baixa variação: 1200 mg/m²/dose (POH-19), 1600 mg/m²/dose (POH-11), 2100 mg/m²/dose (POH-17) e 2800 mg/m²/dose (POH-18).

ARTIGO	CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO ESTUDADA	DOSAGEM VIA DE ADMINISTRAÇÃO	ESQUEMA TERAPÊUTICO	FASE	TIPO DE ESTUDO
Câncer de Mama					
POH-09	14 indivíduos todos mulheres	---	250mg POH + 250mg óleo de soja via oral	4 x ao dia - 1200 mg/m ² /d ciclo = 28 dias Escalonamento para 1500mg/m ² /d após 1 ciclo sem toxicidade	II Aberto não controlado não randomizado
Câncer Colorretal					
POH-15	27 indivíduos 16 homens e 11 mulheres (42 - 79 anos) 1999	---	POH 700 mg cápsulas de gelatina vermelha mole (contendo 675 mg POH) via oral	12000mg/m ² , 4x ao dia Escalonado após 1 mês: 1600mg/m ² , 4x ao dia	II Aberto não controlado não randomizado
Câncer de Próstata					
POH-12	15 indivíduos todos homens (40 - 90 anos)	---	250mg POH + 250mg óleo de soja via oral	4 x ao dia - 1200 mg/m ² ciclo = 28 dias	II Aberto não controlado não randomizado
Câncer de Ovário					
POH-16	18 indivíduos todos mulheres	---	250mg POH + 250mg óleo de soja via oral	4 x ao dia - 1200 mg/m ² ciclo = 28 dias Escalonamento: 4 x ao dia - 1500 mg/m ²	II Aberto Controle histórico não randomizado
Câncer do Pâncreas					
POH-06	7 indivíduos 3 homens e 4 mulheres	---	1200mg/m ² via oral	1200mg/m ² - 4x ao dia Início 15 dias antes da cirurgia Última dose na tarde anterior Não há retomada do medicamento após cirurgia.	I Aberto Controle sem tratamento (histórico) Não randomizado

Quadro 1 – Síntese de dados básicos sobre os estudos clínicos desta revisão sistemática. (continua)

Fonte: Elaboração própria

ARTIGO	CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO ESTUDADA	DOSAGEM VIA DE ADMINISTRAÇÃO	ESQUEMA TERAPÊUTICO	FASE	TIPO DE ESTUDO	
Câncer no Cerebro						
POH-01	subgrupo de 19 indivíduos a partir de 198 11 mulheres e 9 homens (18-62 anos) 2006-2014	Astrocitoma: 19 Oligodendrioglioma: 1	0,3% v/v (55mg) intranasal	4 x ao dia 55mg; 0,3% v/v totalizando 266,8 mg/dia	I/II	Não especificado
POH-02	198 indivíduos 81 mulheres e 117 homens (28-69 anos) 2006-2012	Glioblastoma: 155 Astrocitoma: 27 Oligodendrioglioma: 16	0,3% v/v (55mg) intranasal	4 x ao dia Escalonamento: 1) 55mg/dose; 0,3% v/v totalizando 266,8 mg/dia 2) 133,4mg/dose; 4 x ao dia 533,6 mg/dia	I/II	Randomizado
POH-03	83 indivíduos 51 homens e 32 mulheres (18-82 anos) 2007-2011	Glioblastoma 1ª: 51 Glioblastoma 2ª: 32	0,3% v/v (55mg) intranasal	4 x ao dia escalonado de 220 a 440mg/dia	I/II	Controlado e randomizado. amostras - hemorio Controle: 196 indivíduos.
POH-04	89 indivíduos 39 mulheres e 50 homens (39-85 anos) 2005 a 2009	Glioblastoma 1ª: 83 Glioblastoma 2ª: 06	0,3% v/v (55mg) intranasal	4 x ao dia escalonado de 220 a 440mg/dia	I/II	Controle histórico Controle: 52 indivíduos
POH-08	37 indivíduos 14 mulheres e 23 homens (35-69 anos) Não foi declarado o tempo	Glioblastoma: 29 Astrocitoma: 5 Oligodendrioglioma: 3	0,3% v/v (55mg) intranasal	4x ao dia 55mg; 0,3% v/v 220mg/dia	I/II	Não especificado.
Câncer em diversas localidades						
POH-11	20 indivíduos 9 homens e 11 mulheres	5 - Carcinoma coloretal 2 - Carcinoma de próstata, Sarcoma, Carcinoma de células gigantes do pulmão, linfoma não-Hodgkin 1 - leucemia mieloide crônica, Carcinoma pancreático, Melanoma, carcinoma de células renais,	250mg POH + 250mg óleo de soja via oral	3x ao dia 14 dias de medicação e 14 dias de descanso	I	Aberto não controlado randomizado

ARTIGO	CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO ESTUDADA		DOSAGEM VIA DE ADMINISTRAÇÃO	ESQUEMA TERAPÊUTICO	FASE	TIPO DE ESTUDO
POH-13	19 indivíduos 11 homens e 8 mulheres	4 - Carcinoma de células renais, Sarcoma de tecido mole 2 - Melanoma, Tumor na glândula salivar 1 - Câncer gástrico, Adenocarcinoma ovariano, Câncer cervical, Câncer pulmonar de células não pequenas, Câncer retal, Câncer pancreático, adenocarcinoma de origem desconhecida	POH 700 mg cápsulas de gelatina vermelha mole (contendo 675 mg POH) via oral	4x ao dia ciclo = 28 dias Escalonamento: (1) 1350mg/m ² /dose - 3 indivíduos (2) 2025 mg/m ² /dose - 4 indivíduos (3) 2700 mg/m ² /dose - 3 indivíduos (4) 3375mg/m ² /dose - 3 indivíduos (5) 4050 mg/m ² /dose - 6 indivíduos	I	Aberto não controlado não randomizado
POH-14	22 indivíduos 11 homens e 10 mulheres	12 - Câncer de pulmão de células não pequenas 3 - Melanoma 2 - Leiomiomas de útero 1 - Carcinoma de células renais, Mesotelioma, Sarcoma de Ewing, Câncer de colon	250mg POH + 250mg óleo de soja via oral	4x ao dia ciclo = 28 dias Escalonamento : 4800, 6400, 8400, 11.200 e 14.800 mg / m ² por dia	I	Aberto não controlado não randomizado
POH-17	21 indivíduos 9 homens e 12 mulheres	6 - gastrointestinal 3 - mama, glândulas salivares 2 - pâncreas, ovários, NSCLC 1 - adrenal, cervical, sarcoma	250mg POH + 250mg óleo de soja via oral	3x ao dia 1600 mg/m ² /dose - 3 indivíduos 2100 mg/m ² /dose - 15 indivíduos 2800 mg/m ² /dose - 3 indivíduos	I	Aberto não controlado não randomizado
POH-18	17 indivíduos 10 homens e 7 mulheres	9 - colon 3 - renal 2 - pulmão, parótida 1 - desconhecido	250mg POH + 250mg óleo de soja via oral	3x ao dia ciclo= 28 dias = 14 dias de medicação e 14 dias de descanso 1600mg/m ² /dose - 4 indivíduos 2100 mg/m ² /dose - 4 indivíduos 2800 mg/m ² /dose - 9 indivíduos	I	Aberto não controlado não randomizado

Quadro 1 – Síntese de dados básicos sobre os estudos clínicos desta revisão sistemática. (continua)

Fonte: Elaboração própria

ARTIGO	CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO ESTUDADA		DOSAGEM VIA DE ADMINISTRAÇÃO	ESQUEMA TERAPÊUTICO	FASE	TIPO DE ESTUDO
POH-19	19 indivíduos 13 homens e 6 mulheres	4 - próstata 3 - ovário 2 - adenocarcinoma, coloretal 1 - adrenal, mama, leucemia mielogenica crônica, melanoma, linfoma não Hodgkin, pâncreas, glândulas salivar, sarcoma	250mg POH + 250mg óleo de soja via oral	4x ao dia 800 mg/m ² /dose - 3 indivíduos 1200 mg/m ² /dose - 7 indivíduos 1600 mg/m ² /dose - 9 indivíduos	I	Aberto não controlado não randomizado
POH-20	18 indivíduos 8 homens e 10 mulheres	4 - próstata 3 - ovário, sarcoma, celulas renais 2 - mama 1 - hepatocelular, leucemia mielogenica cronica, leucemia linfocitica crônica, adenocarcinoma	250mg POH + 250mg óleo de soja via oral	1x ao dia 800 mg/m ² /dose - 4 indivíduos 1600 mg/m ² /dose - 7 indivíduos 2400 mg/m ² /dose - 7 indivíduos	I	Aberto não controlado não randomizado

Quadro 1 – Síntese de dados básicos sobre os estudos clínicos desta revisão sistemática. (conclusão)

Fonte: Elaboração própria

Os desfechos de eficácia escolhidos para esta revisão são aqueles recomendados pelo Guia para desfechos para estudos clínicos de medicamentos oncológicos. Biomarcadores não vão ser utilizados como desfechos nesta revisão porque não são aceitos como desfechos primários válidos para aprovações regulatórias, apenas como parte de um desfecho composto associados a uma medida direta de benefício clínico ou a desfecho substituto. Para serem utilizados como medidas de eficácia, devem ser validados geralmente por uma revisão sistemática com meta-análise (ANVISA, 2015).

A tabela 11 sintetiza os desfechos de eficácia utilizados pelos estudos deste trabalho. Dois desfechos sobressaíram frente aos demais; são eles: 6 de ‘taxa de resposta objetiva’ (TRO) e 8 de ‘tempo até progressão da doença’ (TTP). Nenhum dos estudos escolhidos para integrar a revisão sistemática utilizaram como desfecho a ‘qualidade de vida’ (QoL) ou ‘sobrevida livre de doença’ (SLD). Quatro estudos utilizaram ‘sobrevida livre de progressão’ (SLP) e 5 a ‘sobrevida global’ (SG).

O padrão-ouro para desfechos é a SG, dada a mensuração ser precisa, pela documentação pela data do óbito, não sujeita a um viés de análise. Ela geralmente é utilizada em estudos com grande número de indivíduos e para longo tempo de seguimento (ANVISA, 2015). Randomização é essencial para este tipo de desfecho, assim como controle, não sendo recomendado o controle histórico. Dos 5 estudos que utilizaram este desfecho, 2 utilizaram controle histórico (POH-04 e POH-06) e 3 não eram estudos controlados (POH-02, POH-08 e POH-09). Nenhum deles era randomizado. Dois estudos foram realizados com pequeno quantitativos de indivíduos: 7 (POH-06) e 14 (POH-9).

SLP, TTP e TRO (Taxa de resposta objetiva) podem ser utilizados em alguns casos como desfecho substituto para o SG. Tanto SLP como TTP necessitam de randomização e nenhum dos estudos que os utilizaram são randomizados. A TRO, ao contrário dos outros desfechos, pode ser utilizada em estudos com braço único (sem controle), que é o caso da maior parte dos estudos que compõe esta revisão.

Tabela 11 – Descrição dos desfechos de eficácia dos estudos elencados para a revisão sistemática

ARTIGOS	REFERÊNCIA	SG	SLP	TTP	SLD	TRO	QoL	BioM
<i>Tratamento de lesões pré-cancerosas</i>								
POH-05	Stratton <i>et al.</i> , 2010							X
POH-07	Stratton <i>et al.</i> , 2008							X
<i>Câncer de Mama</i>								
POH-09	Bailey <i>et al.</i> , 2008	X		X				
POH-10	Stearns <i>et al.</i> , 2004							X
<i>Câncer Colorretal</i>								
POH-15	Morgan-Meadows <i>et al.</i> , 2002			X				
<i>Câncer de Próstata</i>								
POH-12	Liu <i>et al.</i> , 2003					X		X
<i>Câncer de Ovário</i>								
POH-16	Bailey <i>et al.</i> , 2002		X	X				
<i>Câncer do Pâncreas</i>								
POH-06	Matos <i>et al.</i> , 2008	X						X
<i>Câncer no Cérebro</i>								
POH-01	Da Fonseca <i>et al.</i> , 2016		X					
POH-02	Da Fonseca <i>et al.</i> , 2013	X						
POH-03	Da Silveira <i>et al.</i> , 2012							X
POH-04	Da Fonseca <i>et al.</i> , 2011	X						
POH-08	Da Fonseca <i>et al.</i> , 2008 b	X	X	X				
<i>Câncer em diferentes localidades</i>								
LIM-01	Virgushin <i>et al.</i> , 1998			X				
POH-11	Bailey <i>et al.</i> , 2004					X		X
POH-13	Morgan-Meadows <i>et al.</i> , 2003					X		
POH-14	Azzoli <i>et al.</i> , 2003			X				
POH-17	Murren <i>et al.</i> , 2002			X				
POH-18	Hudes <i>et al.</i> , 2000					X		X
POH-19	Ripple <i>et al.</i> , 2000					X		
POH-20	Ripple <i>et al.</i> , 1998					X		X

LEGENDA- **SG**: Sobrevida Geral; **SLP**: Sobrevida livre de progressão; **TTP**: tempo até a progressão da doença; **SLD**: Sobrevida livre de doença; **RO**: Resposta objetiva **QoL**: Qualidade de vida; **BioM**: Biomarcadores.

Fonte: Elaboração própria

6.5 DESCRIÇÃO DOS DESFECHOS DE EFICÁCIA

Nesta revisão sistemática, foram incluídos para análise dos desfechos de eficácia 17 artigos com estudos clínicos para o POH e 1 para o limoneno. O quadro 2 sintetiza as informações sobre os desfechos de eficácia do POH.

As evidências clínicas fortes são aquelas oriundas de ensaios clínicos controlados e randomizados de fase III com um contingente grande de indivíduos, por meio dos quais é possível extrair resultados que indiquem benefício clínico. Somente após esta fase é que medicamentos recebem aprovação das agências reguladoras para comercialização. As evidências fornecidas pelos ensaios clínicos de fase I e II são limitadas pelo próprio desenho do estudo destas fases (GOMES, 2012).

Como não há disponível ensaios clínicos de fase III para o limoneno e o POH, lembrando que o ácido perílico e perilaldeído nem ensaios clínicos possuem, não será possível concluir quanto à existência de evidências clínicas de segurança e eficácia destas substâncias. De qualquer maneira, os achados durante esta prospecção foram aqui descritos, entendendo que os estudos de fase I e II demonstram, de algum modo, se existe ou não algum potencial para estas substâncias para tratar câncer.

O estudo LIM-01 foi o primeiro ensaio clínico com o limoneno para pacientes com câncer avançado. Ao todo, 42 indivíduos foram recrutados: 26 com câncer de mama, 7 colorretal e 9 de outros tipos. Algumas observações importantes podem ser extraídas de LIM-01: 1) 1 mulher com câncer de mama obteve resposta parcial e se manteve estável por 21 ciclos (11 meses) com 8 g/m^2 de limoneno, até a doença progredir e a paciente ser retirada do ensaio (outras 10 mulheres com câncer de mama utilizando a mesma dose de POH não apresentaram resultados similares); 2) 3 indivíduos tiveram estabilização da doença por 6 meses; 3) 1 paciente com adenocarcinoma colorretal teve redução do tamanho do tumor e se manteve estável por 12 meses com $0,5 \text{ mg/m}^2$ de limoneno; 4) em um paciente com cistoadenocarcinoma de apêndice não foi mensurada progressão por até 9 meses com $0,5 \text{ mg/m}^2$ limoneno.

O POH foi testado para tratar lesões de pele pré-cancerosas, ceratose actínica, em dois estudos clínico: um de fase I (POH-07) e outro de fase II (POH-05). No estudo de fase I, não foi constatada diferença entre as lesões dos 2 braços dos indivíduos, pela aplicação do POH ou do placebo. Já o estudo de fase II constatou uma redução significativa das proporções anormais do núcleo das células do tecido lesionado (ceratose actínica) para 31% dos indivíduos tratados, contra 17% do placebo.

Ao se observar o quadro 2, nota-se que apenas um indivíduo com câncer colorretal no estudo POH-19 respondeu objetivamente, com a regressão do tumor mantendo-se estável por quase 2 anos. Nos outros estudos clínicos desta revisão sistemática não foram constatadas respostas objetivas, mas sim diversos casos de estabilização da doença, como por exemplo: 1) em POH-11, 1 indivíduo apresentou estabilização da doença por 8 ciclos (ciclo = 28 dias), ainda que nenhum outro indivíduo tenha recebido POH por mais de 5 ciclos; 2) em POH- 13, 5 indivíduos alcançaram a estabilização da doença por 6 meses, 1 indivíduo por 11 meses, e mais 1 indivíduo por 12 meses; e 3) no POH-20, vários indivíduos atingiram a estabilização da doença por mais de 6 meses.

Sem dúvida o estudo que mostrou um maior potencial até o momento foi o POH por via inalatória para tratar glioblastoma (POH-01, 02, 03, 04 e 08). O artigo que melhor definiu os desfechos de eficácia e de segurança foi o POH-01. Nele foi possível observar que 19 indivíduos dos 198 recrutados no total apresentaram estabilização ou remissão do gliomas por mais de 5 anos. Isso significa que, em torno de 10% dos pacientes, houve uma excelente resposta. Ainda que esse não pareça ser um número muito expressivo, o glioblastoma (um tipo glioma maligno estudado no ensaio clínico em questão) tem um prognóstico muito ruim, sendo a expectativa de vida após o diagnóstico de 9-12 meses no Brasil, com taxa de sobrevivência abaixo de 5% em cinco anos (CAMBRUZZI *et al.*, 2010; MENDES *et al.*, 2014). Atualmente o grupo de estudo do POH no Brasil tem focado seus esforços em estabelecer um perfil de paciente que responda bem ao tratamento com o POH. Com este condicionante, foram realizados estudos para verificar a influencia de edema peri-tumoral, localização do tumor e tipo de glioma (glioblastoma 1 e 2, astrocitoma e oligodendroglioma) na resposta à terapia intranasal, além de estudos de farmacogenômica (POH-03).

Em conjunto, os resultados mostram um potencial para o POH, ainda que devam ser encarados com cautela, pois foram obtidos a partir de um ensaio clínico não randomizado, aberto e com controle histórico. O glioblastoma é considerado uma doença rara de acordo com o NIH, daí sua abordagem constituir um complexo desafio. Devido à baixa incidência dessa doença, o recrutamento de indivíduos fica dificultado, uma estratégia para tentar contornar este fato seria a realização de estudos multicêntricos (BOGAERTS *et al.*, 2015).

No momento está em andamento um estudo unicêntrico, aberto e de braço-único nos EUA financiados pela *NEONC Technologies*.

ARTIGO	CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO ESTUDADA	DOSAGEM VIA DE ADMINISTRAÇÃO	ESQUEMA TERAPÊUTICO	FASE	TIPO DE ESTUDO	DESFECHO DE EFICÁCIA	RESULTADO	CONCLUSÃO DOS AUTORES
Câncer de Mama								
POH-09	14 indivíduos todos mulheres	250mg POH + 250mg óleo de soja via oral	4 x ao dia - 1200 mg/m ² /d ciclo = 28 dias Escalonamento para 1500mg/m ² /d após 1 ciclo sem toxicidade	II	Aberto não controlado não randomizado	SG	389 dias (202-776)	O recrutamento foi suspenso precocemente devido a falta de resposta e a pobre tolerância ao POH. Este regime não parece prover benefício em carcinoma de mama avançado refratário a tratamento.
Câncer Colorretal								
POH-15	27 indivíduos 16 homens e 11 mulheres (42 - 79 anos) 1999	POH 700 mg cápsulas de gelatina vermelha mole (contendo 675 mg POH) via oral	12000mg/m ² , 4x ao dia Escalonado após 1 mês: 1600mg/m ² , 4x ao dia	II	Aberto não controlado não randomizado	TTP	1,8 meses (1-3)	POH administrado nesta dose e formulação não parece ter atividade antitumor usada para pacientes com carcinoma colorretal.
Câncer de Próstata								
POH-12	15 indivíduos todos homens (40 - 90 anos)	250mg POH + 250mg óleo de soja via oral	4 x ao dia - 1200 mg/m ² ciclo = 28 dias	II	Aberto não controlado não randomizado	SLP TRO	17,5 semanas (1 paciente) Nenhuma resposta objetiva foi observada.	A combinação de fraca tolerabilidade e falta de benefício objetivo implica que o POH administrado em 1200mg/m ² /dose oralmente 4 vezes ao dia não apresenta papel significativo no tratamento de câncer de próstata metastático independente de androgênio.

Quadro 2 – Síntese dos estudos clínicos escolhidos para o POH (continua). LEGENDA: SG: Sobrevida Geral; SLP: Sobrevida livre de progressão; TTP: tempo até a progressão da doença; SLD: Sobrevida livre de doença; RO: Resposta objetiva QoL: Qualidade de vida; BioM: Biomarcadores.

Fonte: Elaboração própria

ARTIGO	CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO ESTUDADA	DOSAGEM VIA DE ADMINISTRAÇÃO	ESQUEMA TERAPÊUTICO	FASE	TIPO DE ESTUDO	DESFECHO DE EFICÁCIA	RESULTADO	CONCLUSÃO DOS AUTORES
<i>Câncer de Ovário</i>								
POH-16	18 indivíduos todos mulheres	250mg POH + 250mg óleo de soja via oral	4 x ao dia - 1200 mg/m ² ciclo = 28 dias Escalonamento: 4 x ao dia - 1500 mg/m ²	II	Aberto Controle histórico não randomizado	TTP	1,7 Meses	O POH administrado a esta dose e à esta formulação não apresentou sinais de prolongamento do tempo de progressão em doentes com carcinoma ovariano avançado.
<i>Câncer do Pâncreas</i>								
POH-06	7 indivíduos 3 homens e 4 mulheres	1200mg/m ² via oral	1200mg/m ² - 4x ao dia Início 15 dias antes da cirurgia Última dose na tarde anterior Não há retomada do medicamento após cirurgia.	I	Aberto Controle sem tratamento (histórico) Não randomizado	SG	240± 56 dias	Tempo de sobrevida em média foi ligeiramente maior em pacientes que receberam 100% do tratamento com POH comparado com aqueles que não tiveram, mas sem significância estatística.

Quadro 2 – Síntese dos estudos clínicos escolhidos para o POH (continua). LEGENDA: SG: Sobrevida Geral; SLP: Sobrevida livre de progressão; TTP: tempo até a progressão da doença; SLD: Sobrevida livre de doença; RO: Resposta objetiva QoL: Qualidade de vida; BioM: Biomarcadores.

Fonte: Elaboração própria

ARTIGO	CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO ESTUDADA	DOSAGEM VIA DE ADMINISTRAÇÃO	ESQUEMA TERAPÊUTICO	FASE	TIPO DE ESTUDO	DESFECHO DE EFICÁCIA	RESULTADO	CONCLUSÃO DOS AUTORES
Câncer no cérebro								
POH-01	subgrupo de 19 indivíduos a partir de 198 11 mulheres e 9 homens (18-62 anos) 2006-2014	0,3% v/v (55mg) intranasal	4 x ao dia 55mg; 0,3% v/v totalizando 266,8 mg/dia	I/II	Não especificado	SLP- 5 anos	2 indivíduos tiveram regressão e 18 tiveram estabilização.	Entre os 198 indivíduos em nosso estudo, observou-se que um tratamento por mais de 5 anos com o POH como quimioterápico único melhorou e estabilizou 19 indivíduos com gliomas.
POH-02	198 indivíduos 81 mulheres e 117 homens (28-69 anos) 2006-2012	0,3% v/v (55mg) intranasal	4 x ao dia Escalonamento: 1) 55mg/dose; 0,3% v/v totalizando 266,8 mg/dia 2) 133,4mg/dose; 4 x ao dia 533,6 mg/dia	I/II	Randomizado	SLP	Após 6 meses: 48,2% GBM 60% AA 66,6% AO Taxa de sobrevivência após 24 meses: 6,2% GBM 1° 63% GBM 2° 15% AA 56% AO 19% dos indivíduos tiveram uma boa resposta e melhora do quadro de sintomas.	Depois de 4 anos de tratamento com POH, 19% dos indivíduos ainda permanecem em remissão clínica. Quimioterapia prolongada de POH é segura.

Quadro 2 – Síntese dos estudos clínicos escolhidos para o POH (continua). LEGENDA: SG: Sobrevida Geral; SLP: Sobrevida livre de progressão; TTP: tempo até a progressão da doença; RO: Resposta objetiva; GBM: Glioblastoma Multiforme, AA: Astrocitoma, AO: Oligodendrioglioma

Fonte: Elaboração própria

ARTIGO	CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO ESTUDADA	DOSAGEM VIA DE ADMINISTRAÇÃO	ESQUEMA TERAPÊUTICO	FASE	TIPO DE ESTUDO	DESFECHO DE EFICÁCIA	RESULTADO	CONCLUSÃO DOS AUTORES
POH-03	83 indivíduos 51 homens e 32 mulheres (18-82 anos) 2007-2011	0,3% v/v (55mg) intranasal	4 x ao dia escalonado de 220 a 440mg/dia	I/II	Controlado e randomizado. As amostras do controle foi obtidas pelo hemorio. Controle: 196 indivíduos	S	Sobrevivência: Média: 43,3 ± 49,1 semanas. GBM 1 ^a : 27,2 ± 28,1 semanas. GBM 2 ^a : 70 ± 62,9 semanas. Indivíduos com níveis de EGF ≤ 250pg/mL tiveram aumento de sobrevida e também maior frequência do genótipo GG.	A sobrevivência do GBM2 ^a foi bem maior que o 1 ^a . Nível de EGF pode ser utilizado com marcador de predição de resposta para o tratamento de POH. Baixo nível de EGF e alelo EGF+61A estão associados com uma sobrevida maior. O genótipo AA ou o alelo A pode ser considerado fator de risco para GBM 1 ^a .
POH-04	89 indivíduos 39 mulheres e 50 homens (39-85 anos) 2005 a 2009	0,3% v/v (55mg) intranasal	4 x ao dia escalonado de 220 a 440mg/dia	I/II	Controle histórico Controle: 52 indivíduos	SG	GBM 1 ^a : < 3 meses: 57 indivíduos 3-6 meses: 14 indivíduos > 6 meses: 11 indivíduos Não foi realizado para o GBM 2 ^a Tempo de sobrevida GBM 1 ^a : 5,9 meses GBM 2 ^a : 11,2 meses Controle: 2,3 meses Localização do tumor: Lobar: 65 GBM 1 ^a , 5 GBM 2 ^a e 40 Controle Profundo: 18 GBM 1 ^a , 1 GBM 2 ^a e 12 Controle	A administração intranasal de POH aumentou a sobrevida global de pacientes com glioblastoma comparado com o controle histórico principalmente o GBM 2 ^a e localizado na região profunda do cérebro.

Quadro 2 – Síntese dos estudos clínicos escolhidos para o POH (continua). LEGENDA: SG: Sobrevida Geral; SLP: Sobrevida livre de progressão; TTP: tempo até a progressão da doença; RO: Resposta objetiva ; GBM: Glioblastoma Multiforme, AA: Astrocitoma, AO: Oligodendrioglioma

Fonte: Elaboração própria

ARTIGO	CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO ESTUDADA	DOSAGEM VIA DE ADMINISTRAÇÃO	ESQUEMA TERAPÊUTICO	FASE	TIPO DE ESTUDO	DESFECHO DE EFICÁCIA	RESULTADO	CONCLUSÃO DOS AUTORES
POH-08	37 indivíduos 14 mulheres e 23 homens (35-69 anos) Não foi declarado o tempo	0,3% v/v (55mg) intranasal	4x ao dia 55mg; 0,3% v/v 220mg/dia	I/II	Não especificado.	SG SLP TTP	SLP de 6 meses: Glioblastoma: 48,2% Astrocitoma: 60% Oligodendrioglioma: 66,6% Resposta parcial: 1 GBM , 0 AA e 1 AO Estabilização da Doença: 13 GBM , 3 AA e 1 AO Progressão da doença: 15 GBM , 2 AA e 1 AO Seguimento: Glioblastoma: 48 semanas Astrocitoma: 48 semanas Oligodendrioglioma: 56 semanas	Regressão do tumor em alguns indivíduos sugerem atividade antitumoral.
<i>Câncer em diversas localidades</i>								
POH-11	20 indivíduos 9 homens e 11 mulheres	250mg POH + 250mg óleo de soja via oral	3x ao dia 14 dias de medicação e 14 dias de descanso	I	Aberto não controlado randomizado	TRO	Não foi observada resposta objetiva.	Em adultos com neoplasias malignas avançadas, um esquema interrompido de administração de POH não revelou vantagens significativas sobre os esquemas de dosagem contínua

Quadro 2 – Síntese dos estudos clínicos escolhidos para o POH (continua). LEGENDA: SG: Sobrevida Geral; SLP: Sobrevida livre de progressão; TTP: tempo até a progressão da doença; RO: Resposta objetiva; GBM: Glioblastoma Multiforme; AA: Astrocitoma; AO: Oligodendrioglioma
Fonte: Elaboração própria

ARTIGO	CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO ESTUDADA	DOSAGEM VIA DE ADMINISTRAÇÃO	ESQUEMA TERAPÊUTICO	FASE	TIPO DE ESTUDO	DESFECHO DE EFICÁCIA	RESULTADO	CONCLUSÃO DOS AUTORES
POH-13	19 indivíduos 11 homens e 8 mulheres	POH 700 mg cápsulas de gelatina vermelha mole (contendo 675 mg POH) via oral	4x ao dia ciclo = 28 dias Escalonamento: (1) 1350mg/m ² /dose - 3 indivíduos (2) 2025 mg/m ² /dose - 4 indivíduos (3) 2700 mg/m ² /dose - 3 indivíduos (4) 3375mg/m ² /dose - 3 indivíduos (5) 4050 mg/m ² /dose - 6 indivíduos	I	Aberto não controlado não randomizado	TRO	Não foi observada resposta objetiva.	Uma dose de 2050 mg administrada quatro vezes ao dia foi facilmente tolerada. Doses mais elevadas podem ser administradas, mas com o aumento da toxicidade gastrointestinal que limita a adesão.
POH-14	22 indivíduos 11 homens e 10 mulheres	250mg POH + 250mg óleo de soja via oral	4x ao dia ciclo = 28 dias Escalonamento: 4800, 6400, 8400, 11.200 e 14.800 mg / m ² por dia	I	Aberto não controlado não randomizado	TTP	13 meses (apenas 1 paciente)	As variações das MDTs encontradas no diferentes estudos são atribuídas a efeitos gastrointestinais subjetivos e não-específicos.
POH-17	21 indivíduos 9 homens e 12 mulheres	250mg POH + 250mg óleo de soja via oral	3x ao dia 1600 mg/m ² /dose - 3 indivíduos 2100 mg/m ² /dose - 15 indivíduos 2800 mg/m ² /dose - 3 indivíduos	I	Aberto não controlado não randomizado	TTP	48 dias (11-172)	Estabilização da doença foi observada em 1 indivíduo.

Quadro 2 – Síntese dos estudos clínicos escolhidos para o POH (continua). LEGENDA: SG: Sobrevida Geral; SLP: Sobrevida livre de progressão; TTP: tempo até a progressão da doença; RO: Resposta objetiva. Fonte: Elaboração própria

ARTIGO	CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO ESTUDADA	DOSAGEM VIA DE ADMINISTRAÇÃO	ESQUEMA TERAPÊUTICO	FASE	TIPO DE ESTUDO	DESEFECHO DE EFICÁCIA	RESULTADO	CONCLUSÃO DOS AUTORES
POH-18	17 indivíduos 10 homens e 7 mulheres	250mg POH + 250mg óleo de soja via oral	3x ao dia ciclo= 28 dias = 14 dias de medicação e 14 dias de descanso 1600mg/m ² /dose - 4 indivíduos 2100 mg/m ² /dose - 4 indivíduos 2800 mg/m ² /dose - 9 indivíduos	I	Aberto não controlado não randomizado	TRO	Não houve resposta objetiva	O esquema de dose 1600- 2100mg/m ² /dose, 3x ao dia, por 14 dias de medicação e 14 dias de pausa foi bem tolerado.
POH-19	19 indivíduos 13 homens e 6 mulheres	250mg POH + 250mg óleo de soja via oral	4x ao dia 800 mg/m ² /dose - 3 indivíduos 1200 mg/m ² /dose - 7 indivíduos 1600 mg/m ² /dose - 9 indivíduos	I	Aberto não controlado não randomizado	TRO	Foi observada resposta objetiva para um paciente.	A MDT 4 x ao dia é 1200 mg/m ² /dose. 6 pacientes tiveram estabilização da doença por 6 meses ou menos.
POH-20	18 indivíduos 8 homens e 10 mulheres	250mg POH + 250mg óleo de soja via oral	1x ao dia 800 mg/m ² /dose - 4 indivíduos 1600 mg/m ² /dose - 7 indivíduos 2400 mg/m ² /dose - 7 indivíduos	I	Aberto não controlado não randomizado	TRO	Não foi observada resposta objetiva	Uma grande dose única não parece prover nenhuma vantagem nos níveis de metabólitos e deve ser associado com aumento da toxicidade, um e aumento de frequência de dose deve ser feito.

Quadro 2 – Síntese dos estudos clínicos escolhidos para o POH (conclusão). LEGENDA: SG: Sobrevida Geral; SLP: Sobrevida livre de progressão; TTP: tempo até a progressão da doença; TRO: Resposta objetiva

Fonte: Elaboração própria

6.6 DESCRIÇÃO DOS DESFECHOS DE SEGURANÇA

O desfecho de segurança analisado nesta revisão sistemática foi ‘efeitos adversos’.

Os estudos clínicos utilizados nesta revisão sistemática se basearam no NCI – *Common Terminology Criteria for Adverse Events* (CTCAE) para avaliar os efeitos adversos. Este guia fornece uma escala de grau (severidade) para cada efeito adverso classificado em diversas categorias baseados em anatomia e/ou fisiopatologia. A escala de severidade do efeito adverso é composta por 5 níveis: Grau 1 (leve), Grau 2 (moderado); Grau 3 (severo), Grau 4 (risco de morte ou incapacitante) e Grau 5 (morte) (CTCAE, 2006).

Segundo o CTCAE, um efeito adverso é qualquer sinal desfavorável e não intencional (incluindo um achado laboratorial anormal), sintoma ou doença temporariamente associado ao uso de um tratamento ou procedimento médico que pode ou não ser considerado relacionado ao tratamento ou ao procedimento médico em questão (CTCAE, 2006).

Os efeitos adversos e seus respectivos graus de severidade relatados pelos estudos clínicos desta revisão, utilizando o POH e o limoneno para tratar o câncer ou lesões pré-cancerosas, estão descritos no quadro 3 e 4.

Os efeitos adversos apresentados pelos ensaios clínicos analisados com administração oral de POH foram gastrointestinais e fadiga, de grau leve a moderado. Alguns estudos relataram que as náuseas poderiam ser controladas com antieméticos ou sugeriram que as cápsulas fossem ingeridas com alimentos (POH-17).

Alguns indivíduos não toleraram os efeitos adversos e abandonaram os estudos. A justificativa destas saídas está no quadro 3, com o motivo mais frequente apontado como a baixa tolerabilidade oral ao POH. Isso acarretou a interrupção do recrutamento em alguns estudos.

Vários motivos foram levantados para as causas desses efeitos gastrointestinais. Segundo Ripple (1998), poderia estar ocorrendo refluxo esofágico pela diminuição da pressão no esfíncter esofágico, pelo POH, uma suposição com base no mesmo efeito causado pelo mentol do óleo de hortelã, que possui estrutura química similar. O autor ainda levanta a possibilidade do óleo de soja utilizado como excipiente causar estes efeitos, visto que alimentos ricos em gordura causam esvaziamento gástrico tardio e diminuição na pressão no esfíncter esofágico. Outro motivo levantado pelos autores para a causa das náuseas e vômitos é o excesso de cápsulas ingeridas por dose podendo chegar 30 cápsulas (2800 mg/m²/dose), se considerarmos um esquema terapêutico de 4 vezes ao dia, totalizando 90 cápsulas diárias; o que já é uma dose absurda para pessoas saudáveis, e os estudos lidam com

indivíduos debilitados pelo câncer avançado e as implicações de vários tratamentos debilitantes.

A formulação utilizada para os testes foi a fornecida pelo NCI (250 mg de POH + 250 mg de óleo de soja) (NCI-DCPC, 1996). Como a concentração de POH é baixa, é necessário um grande número de cápsulas para alcançar a dose desejada. Morgan-Meadows e colaboradores (2003) alteraram esta formulação para 675 mg de POH, mas uma pequena melhoria nos efeitos gastrointestinais foram observadas.

Pelas outras vias de administração, o POH foi bem tolerado. Pela via tópica, o estudo clínico mostrou o aparecimento de efeitos adversos leves a moderados, com reações locais (vermelhidão, eritema, erupção cutânea) ocorrendo em 55% dos indivíduos com POH e em 43% com o placebo. As proximidades destas respostas está provavelmente relacionada ao excipiente utilizado na formulação (POH-05). A via inalatória levou 33% dos indivíduos a reclamarem de dor de cabeça intensa no início do tratamento, com dois indivíduos apresentando dor nasal após uso prolongado de POH na dose de 533,6 mg/dia, todavia melhorando e sem causar prejuízo terapêutico após tratamento tópico seguido de redução de dose para 266,8 mg/dia.

O limoneno, assim como o POH, também apresentou prevalência de efeitos gastrointestinais, porém sempre reversíveis; sendo por isso considerado como bem tolerado (LIM-01).

ARTIGOS	POPULAÇÃO ESTUDADA	NÁUSEA (grau)	VÔMITO (grau)	DIÁRREIA (grau)	FADIGA (grau)	ABANDONO
<i>Câncer de Mama</i>						
LIM -01	42 indivíduos	8 indivíduos (1) 5 indivíduos (2)	2 indivíduos (1) 2 indivíduos (2)	9 indivíduos (1) 7 indivíduos (2)	---	2 indivíduos: 1 indivíduo – intolerância ao sintomas gastrointestinais leves 1 indivíduo – náusea (II) e diarreia (I)
POH-09	14 indivíduos	2 indivíduos (1) 4 indivíduos (2) 1 indivíduo (3)		4 indivíduos (1) 1 indivíduo (2)	---	3 indivíduos: fadiga(2), dispneia (2) e LDH (4) com 1 ciclo náusea (2),eructação (2) e ANC (3) dispneia (4), náusea e vômito (3) dia 8 ciclo 1
POH-10	37 indivíduos	---	---	---	1 indivíduo (1)	Não houve abandono nem descontinuação
<i>Câncer Colorretal</i>						
POH-15	27 indivíduos	---	---	---	---	3 indivíduos: eructação (3), inchaço, náuseas (1), fadiga, vômitos, anorexia e aumento da transpiração, anorexia (1)
<i>Câncer de Próstata</i>						
POH-12	15 indivíduos	9 indivíduos (1-2)	8 indivíduos (1) 1 indivíduos (2)	---	7 indivíduos(1-2)	---
<i>Câncer de Ovário</i>						
POH-16	18 indivíduos	14 indivíduos (1-2) 1 indivíduo (3)	5 indivíduos (1-2)	---	8 indivíduos (1-2)	4 indivíduos
<i>Câncer do Pâncreas</i>						
POH-06	7 indivíduos	1 indivíduo (1)	1 indivíduo (1) 1 indivíduo (2)	2 indivíduos (1)	---	---

Quadro 3 – Sumário dos dados sobre os efeitos adversos extraídos dos estudos clínicos escolhido para a revisão sistemática do POH e limoneno por via oral. (continua)
Fonte: Elaboração própria

ARTIGOS	POPULAÇÃO ESTUDADA	NÁUSEA (grau)	VÔMITO (grau)	DIÁRREIA (grau)	FADIGA (grau)	ABANDONO
<i>Câncer em diversas localidades</i>						
POH-11	20 indivíduos	---	---	6 indivíduos (1) 2 indivíduos (2) 1 indivíduo (3)	---	4 indivíduos
POH-13	19 indivíduos	10 indivíduos (1) 1 indivíduo (2) 1 indivíduo (3)		---	5 indivíduos (1) 1 indivíduo (2)	3 indivíduos (2 por náusea e 1 por indigestão)
POH-14	22 indivíduos	84% dos indivíduos (1)				6 indivíduos por intolerância a droga 1 indivíduo por reação alérgica 1 indivíduo por embolia não relacionada
POH-17	21 indivíduos	22 indivíduos (1) 6 indivíduos (2) 1 indivíduo (3)		8 indivíduos (1) 2 indivíduos (2)	15 indivíduos (1) 4 indivíduos (2) 8 indivíduos (3)	5 indivíduos: 1 indivíduo desenvolveu uma infiltração retal oelosa 3 indivíduos - efeitos gastrointestinais 1 indivíduo - fadiga inaceitável
POH-18	17 indivíduos	4 indivíduos (2)		---	---	3 indivíduos: 2 indivíduos – intolerância a medicação 1 indivíduo - toxicidade aguda
POH-19	19 indivíduos	2 indivíduos (2) 1 indivíduo (3)			3 indivíduos (1)	2 indivíduos: 1 indivíduo - náusea (1) 1 indivíduo náusea e vômito (3)
POH-20	18 indivíduos	3 indivíduos (3) 3 indivíduos (2)		1 indivíduo (2)	---	4 indivíduos: 1 indivíduo - vontade própria 3 indivíduos - efeitos gastrointestinais e fadiga (1)

Quadro 3 – Sumário dos dados sobre os efeitos adversos extraídos dos estudos clínicos escolhido para a revisão sistemática do POH e limoneno por via oral. (conclusão)

Fonte: Elaboração própria

ARTIGO	POPULAÇÃO (GRAU)	MACULA (GRAU)	PRURIDO (GRAU)	ERITEMA (GRAU)	QUEIMAÇÃO (GRAU)	PARESTESIA (GRAU)	PRURIDO COM COCEIRA (GRAU)	PAPULA VERMELHA (GRAU)
POH-07	25 indivíduos	1 Ambos (1) 1 POH (1)	1 Ambos (1) 1 Placebo (1)	2 Placebo (1)	1 Placebo (1)	1 Placebo (1)	1 Ambos (1)	1 Ambos (1)
POH-05	89 indivíduos	---	6 Placebo (1) 7 POH (1) 2 POH (2)	1 Placebo (2) 1 POH (2)	2 Placebo (1) 4 POH (1) 1 Placebo (2)	---	---	---

Quadro 4 - Sumário dos dados sobre os efeitos adversos extraídos dos estudos clínicos escolhido para a revisão sistemática do POH e por via tópica.

Fonte: Elaboração própria

6.7. ANÁLISE DA QUALIDADE DOS ESTUDOS E DOS RELATOS

A análise da qualidade dos estudos foi aplicada aos 21 estudos identificados como elegíveis para esta revisão sistemática, cujo método está descrito na metodologia (seção 5.8). Esta análise foi conduzida em conformidade com o manual da Cochrane para desenvolvimento de revisões sistemáticas. Os vieses analisados foram: seleção (pergunta 1 e 2), desempenho (pergunta 3), detecção (pergunta 4) e atrito (pergunta 5). A explicação sobre cada um destes vieses e exemplos de como identificá-los encontra-se no ANEXO 2. A tabela 12 especifica cada um dos estudos e a avaliação aplicada.

Os artigos em geral não caracterizaram o desenho dos estudos aplicados, não deixando completamente explícito se eram controlados, cegados ou randomizados. Apenas dois estudos afirmaram que eram controlados e duplo-cegos: POH-05 e POH-07, ambos envolvendo a administração tópica do POH para tratar ceratose actínica. Pertencem ao mesmo grupo de estudo e são de fase II e I, respectivamente. A qualidade do relato do POH-05 foi superior ao POH-07, já que é o único a evidenciar a descrição do processo de randomização. Neste caso, a sequência aleatória foi computadorizada, com o protocolo muito bem descrito na seção da metodologia, por exemplo, detalhando a área do braço onde creme deveria ser passado. Já o POH-07 só menciona as informações sobre o creme ser utilizado duas vezes ao dia apenas aparece na conclusão e no *abstract* do artigo (e não na metodologia, onde deveria constar).

Os textos de POH-03, POH-07 E POH-11 mencionam a randomização, mas não descrevem como ela foi feita. No POH-03, a seleção da população para o controle foi feita de forma randômica no banco de sangue do Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti (HEMORIO), ou seja, não houve uma geração aleatória de alocação dos indivíduos para a intervenção em estudo, apenas para aqueles que serviriam como controle. Já o POH-11 afirmou ter feito uma randomização para os dois grupos do estudo: alimentado x jejum, mas não há menção de como se fez a aleatorização. No estudo POH-07 existiam dois grupos de alocação, um aplicava o placebo no braço esquerdo e o creme de POH no direito e o segundo grupo fazia o contrário. O estudo cita que a seleção dos indivíduos para cada grupo foi feita randomicamente, mas não descreve o processo. Como todos citam no texto que fizeram randomização, mas não descrevem o método para gerar a sequência aleatória, receberam NÃO como resposta para a primeira pergunta. Todos os outros artigos não mencionaram no texto que os estudos em foco foram randomizados; por isso foram considerados como estudos não randomizados.

Tabela 12 – Análise da qualidade dos 21 estudos elegíveis para revisão sistemática.

ARTIGO	1	2	3	4	5	6
LIM-01	Não mencionado	Não mencionado	Não mencionado	Não mencionado	SIM	SIM
POH-01	Não mencionado	Não mencionado	Não mencionado	Não mencionado	SIM	Não menciona
POH-02	Não mencionado	Não mencionado	Não mencionado	Não mencionado	SIM	Não mencionado
POH-03	NÃO	NÃO	NÃO	Não mencionado	SIM	SIM
POH-04	Não mencionado	Não mencionado	NÃO	Não mencionado	Não claro	Não mencionado
POH-05	SIM	NÃO	SIM	Não mencionado	SIM	Não claro
POH-06	Não mencionado	Não mencionado	Não mencionado	Não mencionado	SIM	SIM
POH-07	NÃO	NÃO	SIM	Não mencionado	SIM	SIM
POH-08	Não mencionado	Não mencionado	Não mencionado	Não mencionado	Não claro	SIM
POH-09	Não mencionado	Não mencionado	Não mencionado	Não mencionado	SIM	SIM
POH-10	Não mencionado	NÃO	NÃO	Não mencionado	SIM	SIM
POH-11	NÃO	Não mencionado	Não mencionado	Não mencionado	Não claro	SIM
POH-12	Não mencionado	Não mencionado	Não mencionado	Não mencionado	SIM	SIM
POH-13	Não mencionado	Não mencionado	Não mencionado	Não mencionado	SIM	SIM
POH-14	Não mencionado	Não mencionado	Não mencionado	Não mencionado	SIM	SIM
POH-15	Não mencionado	Não mencionado	Não mencionado	Não mencionado	SIM	SIM
POH-16	Não mencionado	Não mencionado	Não mencionado	Não mencionado	SIM	SIM
POH-17	Não mencionado	Não mencionado	Não mencionado	Não mencionado	SIM	SIM
POH-18	Não mencionado	Não mencionado	Não mencionado	Não mencionado	Não claro	SIM
POH-19	Não mencionado	Não mencionado	Não mencionado	Não mencionado	Não claro	SIM
POH-20	Não mencionado	Não mencionado	Não mencionado	Não mencionado	Não claro	SIM

LEGENDA:

1. O estudo descreve o método usado de geração aleatória?
2. O processo de ocultação de alocação dos participantes foi descrito?
3. Os participantes e profissionais envolvidos desconheciam a intervenção aplicada?
4. Os responsáveis pelas análises dos desfechos desconheciam quais eram os grupos intervenção e controle?
5. Os desfechos estão completos?
6. Perdas e/ou exclusões foram descritas ou justificadas?

Fonte: Elaboração própria

POH-03 e POH-10 afirmaram que utilizaram um braço-controle, mas não houve uma randomização da distribuição dos indivíduos entre os grupos de intervenção e controle. O POH-10 utilizou como controle os indivíduos que preenchiam os critérios de inclusão mas

não aceitaram receber a intervenção proposta pelo estudo. Isso excluiu o sigilo de alocação, já que os indivíduos participantes sabiam em que grupo participariam. Já para POH-03, a randomização ocorreu apenas para o grupo-controle e também não houve sigilo de alocação. Por isso, ambos os estudos receberam NÃO para as perguntas 2 e 3. Os estudos que receberam NÃO ou ‘não mencionado’ para a pergunta 3 foram considerados como abertos, totalizando 19 estudos.

O POH-05 e POH-07 reportam-se como estudos duplo cego, mas não mencionam como foi realizada a ocultação da alocação dos indivíduos nos grupos de intervenção. Portanto, receberam SIM para a terceira pergunta e NÃO para a segunda pergunta.

Seis estudos receberam ‘não claro’ para a pergunta 5, que se refere ao relato dos desfechos. O POH-04 só apresentou a taxa de sobrevivência, que representava o desfecho escolhido, apenas nos resultados e não na metodologia. A metodologia do POH-08 traz como desfecho de eficácia a RO, mas nos resultados os autores afirmam que fizeram TTP, SG e PFS de 6 meses, mas apresentando somente resultados para PFS de 6 meses. Quanto ao desfecho de segurança, o artigo só menciona que POH foi bem tolerado.

O desfecho de eficácia do POH-11, conforme deduzido da descrição da metodologia foi TRO; apresentando o resultado de apenas 1 dos 20 indivíduos. Este demonstrou uma diminuição de adenopatia, o que não correspondia aos critérios pré-estabelecidos como resposta por 8 ciclos de tratamento.

O POH-18 só traz o desfecho de eficácia, RO, no resultado, não deixando claro quantos indivíduos foram considerados pra análise de efeito. O POH-19 também só traz RO no resultado, não deixando claro o resultado desfecho de eficácia para todos os indivíduos, nem diz quantos foram considerados para análise de resposta. O POH-19 afirma que vários indivíduos mostraram estabilização prolongada da doença, mas só descreveu 2 dos 19 indivíduos recrutados. No entanto, descreve 1 caso no qual houve resposta objetiva. Assim, como os anteriores POH-11, POH-18 e POH-19, o POH-20 só traz TRO no resultado, descrevendo o que ocorre com 7 dos 18 indivíduos, e afirma que não houve resposta objetiva.

O POH-05 não deixou claro porque alguns indivíduos saíram do estudo, portanto recebeu ‘não claro’ como resposta para a pergunta 5. O POH-01, POH-02 e POH-04 não mencionam em seus textos quaisquer perdas ou exclusões do estudo.

Nenhum estudo citou em seu relato se os responsáveis pelas análises dos desfechos desconheciam a intervenção aplicada. O mesmo resultado foi observado por Basile (2013) em uma revisão sistemática com meta-análise sobre eventos adversos decorrentes do uso de benzodiazepínicos por idosos. No caso da presente revisão sistemática, este fato já era

esperado porque apenas dois estudos (POH-05 e POH-07) afirmaram realizar o mascaramento do estudo. Como o restante dos estudos analisados foram abertos, não haverá cegamento do avaliador de desfecho, gerando, na presente revisão, um viés esperado.

Como apenas quatro estudos mencionaram realizar a randomização, justifica-se o fato de 80,95% dos estudos não tenham declarado o método de geração aleatória.

A análise da qualidade apontou que todos os estudos apresentaram um alto risco de viés. A baixa qualidade dos relatos dificultou o entendimento e a extração dos dados. Poucos artigos deixaram claro quais seriam os desfechos empregados, necessitando que se inferisse pelo resultado, como por exemplo, ‘nenhum resposta objetiva foi observada’, logo o desfecho foi resposta objetiva. Foi recorrente o fato das informações cruciais do protocolo da pesquisa clínica não se encontrarem na metodologia; um exemplo foi em POH-07, que trouxe apenas na conclusão a informação de que o creme era aplicado duas vezes ao dia. Outro exemplo foi POH-09 que não comentou em nenhum lugar do texto que utilizaria sobrevida global (SG) como desfecho, mas trouxe o resultado dele no abstract, e em nenhuma outra parte.

Um ponto a parte são os estudos clínicos utilizando o POH por via inalatória, além dos resultados se repetirem entre os artigos, as informações sobre o protocolo variam de um para o outro, é necessário ler todos para entender o ensaio clínico.

Outro problema é o título dos artigos, se tivéssemos utilizado como termo para as buscas “clinical trial”, muitos artigos não teriam sido descobertos, principalmente para o limoneno.

6.8. RELEVÂNCIA DA REVISÃO SISTEMÁTICA PARA O CONTEXTO ATUAL

O PRISMA e o Cochrane preconizam que a estrutura da revisão sistemática contenha uma seção descrevendo os impactos da revisão realizada na área do estudo abordado (limoneno e derivados perílicos no tratamento de cânceres). Seguem abaixo as considerações pertinentes sobre este tema:

Existem muitas revisões narrativas discorrendo sobre a atividade anticâncer do limoneno e de seus derivados perílicos transcorrendo mais de 25 anos. Contudo esta é a primeira revisão sistemática sobre este tema. Por tratar-se de uma revisão sistemática o poder de evidência dela é muito superior a uma narrativa. A revisão sistemática fornece um panorama completo sobre o tema da pergunta da pesquisa com isso é possível identificar gaps ou mesmo oportunidades, permitindo tanto solucionar os primeiros quanto revelar nichos potenciais do segundo.

Embora apenas um estudo sobre o papel anticâncer do limoneno tenha entrado na revisão sistemática, foram encontrados 6 artigos de ensaios clínicos, dos quais em cinco artigos, o limoneno era usado para tratar o câncer de mama e em um deles foi testado concomitantemente para câncer de colon. Isso aponta um foco para o câncer de mama que pode ser interpretado como uma visualização da melhor oportunidade pelos pesquisadores envolvidos. A partir disso é possível investir nesse mesmo foco melhorando onde eles falharam ou visando complementar os dados deles ou mesmo decidindo não seguir o mesmo caminho se os dados não forem considerados promissores.

Se alguém fizer um ensaio clínico utilizando algumas das substâncias sob estudo, já teria uma revisão sistemática para suportá-la.

6.9. LIMITAÇÕES DESTA REVISÃO SISTEMÁTICA

O PRISMA e o Cochrane preconizam que a estrutura da revisão sistemática contenha uma seção descrevendo as limitações encontradas durante o desenvolvimento do trabalho. Seguem abaixo aquelas encontradas para os derivados perílicos:

- Alguns autores chegaram a considerar que estudos realizados em países onde a língua inglesa não é nativa, não estariam disponíveis nas buscas feitas no ICTRP (plataforma da OMS), normalmente codificadas por termos em inglês. Contudo, este argumento não se sustenta, já que a ICTRP reúne bases de registros primários, que, ao serem feitos, exigem como quesito para o registro, o termo em inglês.
- O poder de evidência de uma revisão sistemática realizada está diretamente relacionado com o nível de qualidade dos estudos que a compõem. No caso dos estudos possuírem baixos níveis de evidência, a revisão também terá menos poder de suporte para responder à indagação científica a que se propôs responder. Como todos os estudos foram considerados com alto nível de viés, a evidência trazida por eles passam a ser fracas.
- Uma real evidência clínica de eficácia seria obtida de estudos clínicos fase III, já que as fases I e II iniciais ainda não produzem resultado incontestáveis sobre a eficácia do medicamento ou do tratamento sob teste, já que o número de pacientes aqui é mais restrito.

- No presente caso, não há estudo com o limoneno ou qualquer derivado perfílico que tenha atingido em fase III. A razão para isso é que as conclusões das fases I e II não produziram suficientes níveis de evidência para eficácia, principalmente por conta de resultados erráticos para eficácia aliados à baixa tolerabilidade da substância-teste (álcool perfílico) em alguns casos.
- O objetivo de uma revisão sistemática é sumarizar e comparar os resultados de ensaios clínicos, de maneira a se conseguir uma conclusão que permita responder à indagação científica inicial. No caso presente, o limoneno e o POH foram testados em vários e diferentes tipos de cânceres, não permitindo uma comparação homogênea entre os desfechos. Isso dificultou e prejudicou alcançar uma conclusão cabal neste sentido. Esta dificuldade, derivada da heterogeneidade dos resultados é deletéria, no sentido de não permitir a extrapolação da aplicação dos resultados da revisão sistemática, portanto não foi possível realizar uma meta-análise.

6.10. CENÁRIO ATUAL DE PESQUISA E DESENVOLVIMENTO PARA MEDICAMENTOS COM LIMONENO, ÁLCOOL PERÍLICO, ÁCIDO PERÍLICO E PERILALDEÍDO

O *Integrity* é uma ferramenta analítica que apóia a pesquisa e desenvolvimento de novos fármacos; integra dados biológicos, químicos e farmacológicos de mais de 410.000 compostos com atividade biológica demonstrada, e mais de 2.000.000 de citações, entre dados de patentes e referências científicas coletados desde 1988, além de um volume significativo de dados retroativos (THOMSON REUTERS, 2012). Esta base é atualizada diariamente e as informações sobre fármacos referem-se tanto os já instituídos quanto aqueles ainda em fase de desenvolvimento; por isso sua importância, ao fornecer suporte para tomadas de decisões de grupos que realizam pesquisa de desenvolvimento de novos fármacos.

O *Integrity* disponibiliza as seguintes informações para cada fármaco: biomarcadores, literatura, patentes, farmacologia experimental, modelos experimentais, dados de farmacocinética/metabolismo, estudos clínicos, companhias e institutos de pesquisa, e indicações de terapêuticas a ele relacionadas. Neste contexto as informações atualizadas pelo *Integrity* tem a função de esclarecer o estado da técnica de determinadas pesquisas em andamento, e assim oferecer subsídios para o projeto perilato em andamento na instituição. Neste caso específico, as informações levantadas auxiliam quanto à estratégia a ser adotada para consolidar o produto desenvolvido quanto ao seu potencial antineoplásico.

A pesquisa no *Integrity* foi realizada em 23/11/2017 e atualizada em 26/01/2018. O POH e PAH apresentaram resultados, mas nada foi encontrado nas buscas para o POOH. Já o limoneno apenas apresentou resultado quando se alterou a busca para *Chemical Name/Description*.

De acordo com as informações levantadas no *Integrity*, não existe até o momento medicamento registrado em qualquer país, com base em alguma das substâncias-foco deste trabalho, na forma isolada.

O limoneno surgiu como constituinte de uma mistura de óleos essenciais de eucalipto, limão, mirtilo e laranja doce do fitoterápico GeloMyrtol[®], utilizado para sinusite e bronquite.

O PAH entrou no *Integrity* em 11/01/2007 e se encontra em fase de testes pré-clínicos. Duas entidades japonesas estão desenvolvendo produtos com o PAH, são elas a Mukowaga Women's University (Nishinomiya) e Kyoto University (Kyoto), com indicações como antineoplásicos e sedativo/hipnóticos.

O POH faz parte do *Integrity* desde 31/05/2002, e sua descrição o refere como em ativo desenvolvimento. Existem 5 entidades, todas localizadas nos EUA, que já desenvolveram ou desenvolvem projetos com o POH: *National Cancer Institute* (NCI) (Bethesda-MD), *Soligenix* (Princeton-NJ), *NEONC Technologies* (Los Angeles-CA), *University of Arizona* (Tucson-AZ) e *Wisconsin Alumni Research Foundation* (Madison-WI).

Desde 31/01/2014, a *NEONC Technologies* possui 5 projetos em desenvolvimento com o POH, conforme catalogados no *Integrity* (tabela 13); todos na fase de testes pré-clínicos com indicação para neoplasia.

Tabela 13 – Projetos da *NEONC Technologies* catalogados no *Integrity*.

NÚMERO DE CADASTRO NO <i>INTEGRITY</i>	NOME QUÍMICO/ DESCRIÇÃO	PATENTE
824222	Deutério enriquecido com POH conjugado com a temolozomida	WO 2013119304
824228	Deutério enriquecido com POH conjugado com rolipram	
824230	Deutério enriquecido com isoPOH conjugado com dimetil celocoxib	
824232	Deutério enriquecido com isoPOH conjugado com a temolozomida	
824234	Deutério enriquecido com isoPOH conjugado com rolipram	

Fonte: Adaptado do *Integrity*

A *NEONC Technologies* tem um protótipo de medicamento (NEO-100) na fase I de estudos clínicos para glioblastoma, assim como o NCI desenvolveu na década de 90 o NSC-641066 que já passou por diversos ensaios clínicos para diversos tipos de câncer.

O *Integrity* ainda registra 14 ensaios clínicos para o POH (ANEXO 4), todos eles tendo câncer como alvo: testes para os cânceres de pâncreas, mama, ovário, próstata, colorretal e gliomas; e também como agente quimiopreventivo para ceratose actínica. Os ensaios clínicos encontrados foram os mesmos levantados pelas buscas nas outras fontes. A maior parte das informações do ANEXO 4 já foram compiladas diretamente dos artigos selecionados na revisão sistemática; contudo este quadro presente no ANEXO 4 ilustra o potencial da ferramenta oferecida pelo *Integrity*.

6.11. ATUALIZAÇÃO DAS PATENTES SOBRE O LIMONENO, ÁLCOOL PERÍLICO, ÁCIDO PERÍLICO E PERILALDEÍDO

Os resultados da busca atualizada de patentes apontaram 13 patentes para o limoneno, 11 patentes para o POH, 13 patentes para o PAH e 11 patentes para o POOH. A busca no *Integrity* resultou em 10 patentes. O tabelamento das patentes atualizadas foi decidida a partir da leitura e tratamento de cada resumo das patentes obtidas. Quando o título ou o resumo da patente não traziam menção do limoneno ou qualquer derivado perílico, uma verificação adicional no *Google Patents* foi realizada. De maneira geral, os resultados fornecidos pelo *Integrity* foram mais claros e também mais precisos quanto aos temas buscados; enquanto que os resultados do *Scifinder* foram muitas vezes repetitivos quanto aos registros, independentemente da palavra-chave utilizada. Isso exigiu um maior trabalho manual da seleção das patentes obtidas nessa base.

Os resultados consolidados da busca de patentes estão no quadro 5. Vinte e seis patentes foram relacionadas, de alguma maneira, ao tema do projeto perilato. Isso considerando apenas os pedidos prioritários, e incluindo os 9 resumos resultantes da busca anterior a 2014 (ANEXO 3). Houve apenas 1 patente coincidente nas prospecções das duas bases.

A conclusão mais geral, a partir de uma primeira análise dos coordenadores do projeto perilato, é que, embora haja grupos de pesquisa investindo no mesmo tema (derivados perílicos x câncer), não há, aparentemente, patentes recentes que possam competir diretamente com o desenvolvimento proposto no projeto, em seu estágio atual. As patentes solicitadas pela equipe da Fiocruz-UFRJ envolvendo o processo de obtenção do perilato de sódio e sua atividade anticâncer estão resumidas no ANEXO 5.

ANO ¹	Nº DA PUBLICAÇÃO	RESUMO	INVENTORES [DETENTOR]
1996	US5587402A	Título: Álcool perfílico na regressão de carcinomas de mamíferos	M.N. Gould, P.L. Crowell, C.E. Elson, S.S. Clarck [WISCONSIN ALUMNI RESEARCH FOUNDATION]
		Resumo: É revelado um método para produzir a regressão de um carcinoma que compreende a administração de perillyl álcool. A atividade contra uma variedade de tipos de células de câncer humano é relatada, assim como o efeito sobre a isoprenilação de proteínas.	
2003	US 2003055114A1 US 20050070612 US 20090036544 WO 2003024405A2 WO2003024405A3	Título: Métodos e composições para inibir a proliferação de células de câncer de próstata	C. Young [INVENTOR] [MAYO FOUNDATION FOR MEDICAL EDUCATION AND RESEARCH]
		Resumo: A invenção proporciona métodos de monitoramento da proliferação de células de câncer de próstata cultivadas na presença de POH, métodos de tratamento de um indivíduo com câncer de próstata ou risco de desenvolver câncer de próstata e métodos para reduzir o risco de recorrência de câncer de próstata em um indivíduo que já havia sido tratado com câncer de próstata. Os métodos da invenção incluem ainda o tratamento de um indivíduo com hiperplasia prostática benigna (HBP) com POH, bem como métodos de rastreamento de compostos que inibem a proliferação de células de cancro da próstata. O invento proporciona composições e artigos de fabrico contendo POH em formulações particulares e POH com um segundo composto que também exerce um efeito sobre o receptor de androgênio.	
2009	CN 101584660 A	Título: Submicroemulsão antitumoral de álcool perfílico para injeção intravenosa e seu método de preparação	H. Hua, Y. Zhao, L. Liu, Q. Ye, W. Liu, X. Guo [ACADEMIA DE CIÊNCIAS MÉDICAS DE HENAN]
		Resumo: A submicroemulsão do título compreende (por/mL) álcool perfílico 1-30, óleo vegetal para injeção 0,05-0,2 (g), agente emulsionante 8-24, agente co-emulsionante 0-20, agente estabilizante 0,1-3, antioxidante 0,8 e regulador isotônico 22,5. O método do título compreende: (1) adicionar agente estabilizante, agente emulsionante, POH e vitamina E em óleo para injeção, agitando para formar uma fase oleosa; (2) adição de co-emulsionante, glicerol, etc. em água para injeção para formar uma fase aquosa; (3) fase de óleo de injeção em água, mexendo, ajustando pH a 5-9, e homogeneizando a 6000-12000 m por 2-15 min; (4) homogeneizando a pressão 3000-18000 PSI; e (5) engarrafamento, com nitrogênio, vedação, esterilização a 121 por 15 min ou 115 por 30 min, e verificando a qualidade. O processo é simples e adequado para produção industrial. A submicroemulsão possui quantidade elevada de carga de drogas e estabilidade, boa solubilidade e baixa toxicidade e outros efeitos colaterais; e sua qualidade é controlável.	
2007	WO 2007027338A2	Título: Biossíntese e distribuição de compostos terapêuticos	N.S. Renninger, J.D. Newman, K.K. Reiling [AMYRIS, INC.]
		Resumo: A presente invenção proporciona métodos e composições úteis para tratar uma condição de doença, por exemplo, crescimento neoplásico utilizando microrganismos dirigidos a locais de crescimento neoplásicos e contendo moléculas pequenas ou moléculas sintetizadas através de vias enzimáticas. [Numa incorporação específica, uma <i>Salmonella</i> que visa o tumor é projetada para produzir o POH isoprenóide terapêutico]	
2008	US20080167279 A1 US20040176336	Título: Prevenção do câncer de ovário pela administração de produtos que induzem efeitos biológicos no epitélio dos ovários	G.C. Rodriguez [INVENTOR]
		Resumo: A presente invenção refere-se a composições e métodos para prevenir o desenvolvimento de câncer de ovário epitelial. Os regimes e formulações com HRT e OCP aumentados também são divulgados.	
2009	JP 2009114083A	Título: Agente antibacteriano e preparação externa para pele	Tatsuo Nakahara [MARUZEN PHARMACEUT CO LTD]
		Resumo: Fornecer um agente antibacteriano contendo uma fração obtida a partir de uma fonte natural e uma preparação externa para a pele contendo o agente antibacteriano. <P>SOLUÇÃO: Um agente antibacteriano é incorporado com uma fração obtida a partir de um óleo de casca de laranja e contendo pelo menos um composto contendo oxigênio de monoterpene e pelo menos um composto de sesquiterpene como componentes ativos. O agente antibacteriano é adicionado a uma preparação externa para pele. [POH entre monotepenos do ingrediente ativo]	

Quadro 5 - Resultados da atualização das buscas de patentes nas bases *SciFinder* e *Integrity*.¹Organização cronológica crescente em relação ao pedido prioritário, mencionando-se no mesmo quadro as aplicações posteriores, quando encontradas no *Google Patents*

Fonte: Elaboração própria

ANO ¹	Nº DA PUBLICAÇÃO	RESUMO	INVENTORES [DETENTOR]
2009	EP 2042167A1 WO 2009040420 US 2010305214 JP 2010540497 EP 2190424 CN 101854925	Título: Uso de um monoterpene para induzir reparo de tecidos	Patrizia D'alesio [AISA THERAPEUTICS SARL]
		Resumo: A invenção refere-se ao uso de um monoterpene para aumentar o reparo de tecido biológico, isto é, regeneração ou cura do tecido, o uso cosmético de um monoterpene para aumentar o reparo tecidual biológico da pele ou mucosa em um indivíduo e o uso de um monoterpene para o fabrico de uma composição farmacêutica destinada a prevenir ou tratar uma lesão de tecido biológico em um indivíduo. [<i>Limonene e POH induzem o reparo do tecido biológico apesar do efeito antiinflamatório observado anteriormente. Eles são benéficos contra distúrbios crônicos da inflamação da pele como a dermatite atópica</i>]	
2015	CN 104945336 A (títulos diferentes inglês (i) x chinês (ii))	Título (i): Derivados de ésteres de metilo do ácido perílico contendo ácido azoto, e sua preparação e aplicação. Título (ii): Derivado contendo nitrogênio de perilla metilo e rosmarinato roxo, bem como método de preparação e aplicação do mesmo.	Z. Hui, M. Xia, M. Zhang, L. Xu, J. Dong [SHENYANG PHARMACEUTICAL UNIVERSITY]
		Resumo: A presente invenção refere-se a derivados de ésteres metílicos contendo nitrogênio, preparação e aplicação, em que R1 e R2 (fórmula I) são grupos selecionados alquilo C1-C6 ou alcoxi C1-C6. A presente invenção também compreende sais e solventes farmacêuticamente aceitáveis de ésteres metílicos contendo nitrogênio derivados, ou seus sais farmacêuticamente aceitáveis como ingrediente ativo, podendo ser usado no tratamento do câncer. Os derivados de ésteres metílicos contendo e seus sais aceitáveis sob o ponto de vista farmacêutico, e têm boa atividade anticancerígena, com preparação simples e viável, e facilidade de método e operação.	
2015	CN 104945333 A2	Título: Análogos de álcool perílico como agentes antitumorais e sua preparação, composições farmacêuticas e uso no tratamento de câncer	Z. Hui, J. Dong, J. Ma, M. Xia, M. Zhang, L. Xu [SHENYANG PHARMACEUTICAL UNIVERSITY]
		Resumo: A invenção refere-se a análogos do álcool perílico da fórmula I, preparação de sais farmacêuticamente aceitáveis e sua aplicação. A invenção também compreende sais e solventes farmacêuticamente aceitáveis ds perillalc. análogos análogos do álcool perílico e compostos farmacêuticos contendo álcool perílico ou seu sal análogo ou farmacêuticamente aceitável como ingrediente ativo e pode ser utilizado no tratamento do cancer. Os análogos do álcool perílico e os seus sais aceitáveis sob o ponto de vista farmacêutico têm uma boa actividade anticancerígena, prepn simples e viável e facilidade de método e operação. Compostos de fórmula I em que NR1R2 são piperazinilo (não) substituído; R é alquilo C1-6; e os seus sais farmacêuticamente aceitáveis como agentes antitumorais no tratamento do seu cancer são reivindicados. Compostos de fórmul I preparados via adição de Grignard de halogenetos de alquilmagnésio em perilaldeído seguido de acetilação resultam no s derivados de álcool perílico. Os acetatos foram submetidos à cloração seguido de condensação com piperazinas e hidrólise para dar I. Todos os compostos da invenção foram avaliados pela atividade antitumoral.	
2015	CN 104945336 A	Título: Derivados de ésteres metílicos do ácido perílico contendo nitrogênio, e sua preparação e aplicação.	Zi Hui, M. Xia, M. Zhang, L. Xu, J. Dong [SHENYANG PHARMACEUTICAL UNIVERSITY]
		Resumo: A presente invenção refere-se a ésteres metílicos do ácido perílico contendo nitrogênio tendo estrutura de fórmula I, a preparação e sua aplicação, em que R1 e R2 são selecionados de grupos alquila C1-C6, alcoxi C1-C6. A presente invenção também compreende sais e solventes farmacêuticamente aceitáveis contg nitrogênio. Ácidos perílicos Me ésteres derivados e compostos farmacêuticos de ésteres metílicos do ácido perílico contendo nitrogênio, ou seus sais farmacêuticamente aceitáveis como ingrediente ativo, podendo ser usados no tratamento do câncer. Os derivados de ésteres metílicos do ácido perílico contendo nitrogênio derivados e seus sais têm boa atividade anticancerígena, prepn simples e viável. método e operação fácil	
2017	WO 2017184968 A1 WO 2017031101 A1 CA2985123A1 (+ 4 patentes derivadas nos EUA)	Título: Métodos de seleção de pacientes com câncer para tratamento com inibidores da farnesiltransferase	A. Gualberto, C.R. Scholz [KURA ONCOLOGY, INC]
		Resumo: A presente invenção refere-se ao campo de Biologia molecular, biologia celular e biologia do cancer. Especificamente, a presente invenção refere-se a métodos de tratamento de linfoma periférico de células T (PTCL) com um inibidor de farnesiltransferase (FTI) que inclui determinar se o sujeito é susceptível a responder ao tratamento FTI com base nos subtipos PTCL e características adicionais.	
2017	US 20170297985 A1 WO 2018005994	Título: Métodos de tratamento de neurofibromatose com álcool perílico ou álcool isoperílico	T. Chen [NEONC TECHNOLOGIES, INC]
		Resumo: Os presentes métodos tratam a neurofibromatose administrando a um sujeito álcool perílico (I) ou álcool isoperílico (II). Os presentes métodos também tratam a neurofibromatose administrando a um sujeito um carbamato de I, ou um carbamato de II. O carbamato do álcool perílico pode compreender sua conjugação com Rolipram ou Temozolomida	

Quadro 5 - Resultados da atualização das buscas de patentes nas bases *SciFinder* e *Integrity*.

¹Organização cronológica crescente em relação ao pedido prioritário, mencionando-se no mesmo quadro as aplicações posteriores, quando encontradas no *Google Patents*
Fonte: Elaboração própria

ANO ¹	Nº DA PUBLICAÇÃO	RESUMO	INVENTORES [DETENTOR]
2017	US 20170151233 A1 CN107108635A, US20160113924, WO2016069619A1	Título: Método de tratamento de carcinoma nasofaríngeo utilizando derivado de álcool perílico Resumo: Um método de tratamento de carcinoma nasofaríngeo num mamífero inclui a entrega ao mamífero de uma quantidade terapêuticamente eficaz de um carbamato do álcool perílico (POH) carbamato, que é um POH conjugado com temozolomida (TMZ).	T. Chen [NEONC TECHNOLOGIES, INC]
2017	CN 106890140 A CN 201710122379 (títulos e resumos distintos no SciFinder (i) x Google Patents (ii))	Título (i): Composição sinérgica de anticancerígeno com d-Limoneno e seu método de preparação e aplicação em fármaco para tratamento de câncer bucal. Título (ii): Composição sinérgica e método de preparação anticancerígena de D-limoneno e sua aplicação. Resumo (i): O composto anticâncer do título compreende (em peso por cento) ingrediente activo anticancerígeno 0.5-10, primeiro agente sinérgico (0.1-5), segundo agente sinérgico (0.5-10) e água desionizada como diluente equilíbrio. O ingrediente ativo anticancerígeno é o D-limoneno. O primeiro agente sinérgico é o oligossacarídeo quitosano. O segundo agente sinérgico é o surfactante de origem vegetal não-iônico NSF-5 produzido por NASURFAR. A composição inventada pode inibir e induzir apoptose de células cancerosas orais. Resumo (ii): A invenção descreve uma composição sinérgica anticancerígena de d-limoneno e um seu método de preparação. A composição é usada principalmente para habitar a proliferação de células cancerígenas e promover a apoptose das células cancerosas. A composição sinérgica anticancerígena de d-limoneno compreende um surfactante de fonte de planta e um oligossacarídeo de quitosano, em que a composição sinérgica anticancerígena d-limoneno compreende 0,5% a 10% de d-limoneno, 0,1% -5% de oligossacarídeo de quitosano e 0,5% a 10% de surfactante fonte vegetal. O resultado do experimento mostra que o surfactante fonte da planta e o oligossacarídeo de quitosana têm um efeito sinérgico no d-limoneno e a composição particularmente tem efeitos notáveis sobre a inibição e apoptose das células cancerosas orais.	Y. Wang, G. Wang, Y. Wang, F. Zhang, H. Cai, X. Wang, S. Feng, Y. Zhang [UNIVERSIDADE MÉDICA DE SHANXI]
2017	CN 106727450 A	Título: A aplicação de limoneno dextral na preparação de medicamentos para câncer de pulmão de não fumantes Resumo: A invenção descreve uma aplicação do limoneno dextral no preparo de drogas para tratar câncer de pulmão em não-fumantes, o qual é induzido por PM2.5. O limoneno dextral da presente invenção pode inibir a proliferação de células cancerosas, reduzir a metástase e a invasão de células de câncer de pulmão não-fumante, promover a apoptose celular e ter um bom efeito sobre os pacientes com câncer de pulmão em não fumadores. Também oferece uma nova escolha para a clínica no tratamento de câncer de pulmão em não-fumantes.	B. Qian, X. Deng, N. Feng, X. Zhang, Y. Xiaohong, L. Xiaofei, Y. Xue, W. Xiao; Y. Wang, H. Lin, Y. Lin; et al. [SEA JIAOTONG UNIVERSITY SCHOOL OF MEDICINE]
2017	CN 106511358A	Título: Um medicamento para tratar a nefrite lúpica e o método de preparação e a sua aplicação. Resumo: A invenção reivindica um medicamento para tratar a nefrite lúpica e o seu método de preparação e a sua aplicação, em que o medicamento é composto pelas seguintes matérias-primas: 1-5 partes de hexametildisilazano, 11-19 partes de Diflunisal, 13-21 partes de ácido de sódio, perilla 8-16 partes. o mono-sódio Diflunisal e ácido fumárico, misturando e triturando, em seguida, adicionando água desionizada, aquecendo até 75 ° C e agitando o tratamento sob a temperatura para obter a mistura A, então adicionando hexametil-disilazano na mistura A e depois selando e agitando o tratamento sob a temperatura de 88 ° C. Em seguida, adicionando perillyl, depois à temperatura de 63 ° C centígrados por tratamento ultra-sônico por 15 minutos, mexendo para secar a uma temperatura de 75 ° C, granulando para obter o produto. A medicina para tratar o efeito de cura da nefrite lúpica da invenção é mais notável, e é bom para a redução do hormônio, reduzir a complicação no processo de tratamento e efeito curativo, efeito curativo óbvio, efeito curativo preciso, efeito curativo estável, seguro e uso conveniente, e nenhum efeito tóxico e colateral, sem recrudescência após a cura, e baixo preço para a popularização clínica.	Inventor não anunciado [ZHENGZHOU LYDIA MEDICAL TECHNOLOGY CO., LTD.]
2012	WO 2012019113 CN 103221043 EP 2600862 US 2015141380 KR 2013113430	Título: Inibidores de ERK para distúrbios do desenvolvimento da conectividade neuronal Resumo: Um método de tratamento de um sujeito em risco ou suspeita de ter síndrome de X frágil ou distúrbio do espectro do autismo associado a anormalidades de ERK. Inclui administrar ao sujeito uma quantidade terapêuticamente eficaz de pelo menos um composto inibidor de ERK que previne anormalidades na conectividade neuronal, um pró-fármaco que é metabolizável para formar o composto, ou um seu sal farmacêuticamente aceitável. [POH entre as substâncias-exemplo para ação anticonvulsivante associada à referência]	M.A. Smith, M. Snape [CASE WESTERN RESERVE UNIVERSITY]

Quadro 5 - Resultados da atualização das buscas de patentes nas bases *SciFinder* e *Integrity*.

¹Organização cronológica crescente em relação ao pedido prioritário, mencionando-se no mesmo quadro as aplicações posteriores, quando encontradas no *Google Patents*
Fonte: Elaboração própria

7. CONCLUSÃO

1) A revisão sistemática realizada, a partir da pergunta “*Qual é a evidência em humanos que o limoneno, álcool perílico, ácido perílico e perilaldeído são um tratamento efetivo e seguro para câncer (qualquer tipo) e lesão pré-cancerosa?*”, permitiu concluir que:

- Apesar de existirem estudos clínicos já realizados e alguns ainda em curso com limoneno e derivados perílicos, este trabalho representa a primeira revisão sistemática sobre o assunto; e como tal está registrada no PROSPERO.
- Não foram encontradas evidências clínicas robustas que sustentem o uso eficaz e seguro do POH, limoneno, POOH e PAH em cânceres e lesões cancerosas de maneira geral.
- Embora existam estudos clínicos que testam POH e limoneno como agentes anticâncer, o resultado da revisão sistemática leva a afirmar que as evidências que contribuem para suportar sua validação como medicamento são pouco robustas, senão fracas. Os estudos reportados possuem um alto risco de viés, fato que é principalmente ocasionado pela ausência de controle, na randomização e de cegamento em seus desenhos. Esta assertiva inclui os resultados positivos obtidos no caso de glioblastoma.
- Os ensaios de fase 1 e fase 2 estão relacionados à segurança do uso do medicamento. Não foram encontrados registros de ensaios clínicos na fase 3, cujo sucesso é crucial para dar suporte à evidência de eficácia da substância-teste do projeto perilato. Portanto, pode-se afirmar que, segundo a revisão sistemática levada a cabo, não há evidência de eficácia clínica para o limoneno e os derivados perílicos em foco.

2) Durante a abordagem da revisão sistemática, foi possível detectar algumas características e limitações, com respeito ao planejamento dos estudos clínicos disponíveis:

- Os ensaios reportados (fase 1 e/ou fase 2) envolvem poucos participantes. Há pouco poder de extrapolação dos resultados. Até certo ponto, isso se justifica no caso de

glioblastoma, que é uma doença mais rara, com número baixo de pacientes disponíveis para compor estudos extensivos. Isso seria contornado com estudos multicêntricos, dos quais não há registros visíveis.

- A maioria dos protocolos descritos trazem ou reportam problemas na formulação da substância-teste administrada.
- A qualidade dos relatos publicados dificultou bastante a análise dos resultados para a revisão sistemática, com as principais falhas dizendo respeito à descrição do desfecho e metodologia incompleta quanto aos esquemas terapêuticos utilizados.

3) Quanto à contribuição deste estudo para o projeto institucional:

- Como esperado, a conclusão da revisão sistemática permitiu atualizar o estado da arte do limoneno e dos derivados perílicos, em especial o álcool perílico, cujos resultados têm respaldado a proposição do perilato de sódio, sob desenvolvimento, como nova molécula com potencial anticâncer;
- Os resultados obtidos na revisão sistemática sugeriram ampliar o foco do projeto institucional original. Idealizado inicialmente como potencial quimioterápico para tratar melanoma e glioblastoma, o alvo foi estendido também para câncer de mama (já com uma parceria científica em curso);
- As prospecções na base *Integrity* e no refinamento atualizado das patentes mais recentes, estabeleceram o atual estado da técnica para o limoneno e os derivados perílicos; nisso incluído os grupos de pesquisa e empresas envolvidos como desenvolvimentos similares, em nível mundial.
- A ampliação da base de conhecimento sobre novos fármacos baseados em produtos naturais, especificamente derivados do limoneno, agrega valor ao projeto para sua eventual transferência de tecnologia, seja por parcerias com grupos de pesquisa internacionais, seja para alguma empresa interessada, do setor privado.

8. PERSPECTIVAS FUTURAS

Os resultados da revisão sistemática realizada, complementados com as informações levantadas sobre o potencial do limoneno e derivados perílicos como candidatos a novos quimioterápicos para o câncer, apontaram para alguns estudos e atividades que seriam úteis para se atingir este objetivo. Entre eles:

- Manter constante a atualização do estado da arte sobre os estudos clínicos com limoneno e derivados perílicos; ao menos durante a vigência do projeto institucional ou ainda, até uma possível transferência de tecnologia;
- Realizar uma revisão sistemática tendo por foco os ensaios pré-clínicos dos derivados perílicos. Esta abordagem pode eventualmente desdobradas segundo estudos *in vitro* e *in vivo*, dada a abundância de dados disponíveis, conforme constatado nos levantamentos;
- Promover um estudo sobre a viabilidade econômica no desenvolvimento de um fármaco com base em um candidato a quimioterápico (no caso, o sal perilato em desenvolvimento), a partir da definição de um alvo, que pode ser câncer de mama, melanoma ou glioblastoma. Os componentes de custo-benefício incorporariam, principalmente, os ensaios clínicos necessários.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALI R, MIRZA Z, ASHRAF GM, KAMAL MA, ANSARI SA, DAMANHOURI GA, ABUZENADAH AM, CHAUDHARY AG, SHEIKH IA. New anticancer agents: recent developments in tumor therapy. *Anticancer Res.* 2012;32(7):2999-3005.
- ALMEIDA VD, LEITÃO A, REINA L DEL CB, MONTANARI CA, DONNICI CL, LOPES MTP. Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não específicos que interagem com o DNA: uma introdução. *Quim Nova.* 2005;28(1):118–29
- AMERICAN CHEMICAL SOCIETY. SciFinder Scholar: Guia do Usuário. 2005.
- ANANTHAKRISHNAN R, MENON S. Design of oncology clinical trials: a review. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2013;88(1):144-53.
- ANDRADE LN, AMARAL RG, DÓRIA GAA, FONSECA CS, DA SILVA TKM, ALBUQUERQUE JÚNIOR RLC, et al. In vivo anti-tumor activity and toxicological evaluations of perillaldehyde 8,9-epoxide, a derivative of perillyl alcohol. *International Journal of Molecular Sciences.* 2016;17(1):2-11.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. GUIA nº 03. Guia para desfechos para estudos clínicos de medicamentos oncológicos. 2015. v.1.
- AZZOLI CG, MILLER VA, NG KK, KRUG LM, SPRIGGS DR, TONG WP, et al. A phase I trial of perillyl alcohol in patients with advanced solid tumors. *Cancer chemotherapy and pharmacology.* 2003;51(6):493–498.
- BAILEY H, WILDING G, TUTSCH K, ARZOOMANIAN R, ALBERTI D, FEIERABEND C, et al. A phase I trial of perillyl alcohol administered four times daily for 14 days out of 28 days. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology.*
- BAILEY HH, ATTIA S, LOVE RR, FASS T, CHAPPELL R, TUTSCH K, et al. Phase II trial of daily oral perillyl alcohol (NSC 641066) in treatment-refractory metastatic breast cancer. *Cancer Chemotherapy And Pharmacology.* 2008;62(1):149–57.
- BAILEY HH, LEVY D, HARRIS LS, SCHINK JC, FOSS F, BEATTY P, WADLER S. A phase II trial of daily perillyl alcohol in patients with advanced ovarian cancer: Eastern Cooperative Oncology Group Study E2E96. *Gynecol Oncol.* 2002;85(3):464-8.
- BASHIR R, BOURGEOIS FT, DUNN AG. A systematic review of the processes used to link clinical trial registrations to their published results. *Syst Rev.* 2017 Jul 3;6(1):123.
- BASILE R. Uma revisão sistemática e metanálise sobre os eventos adversos decorrentes do uso de benzodiazepínicos por idosos. [São Paulo]: Universidade de São Paulo; 2014.

- ↪ BATHAIE SZ, TAMANOI F, organizadores. Natural Products and cancer signaling: isoprenoids, polyphenols and flavonoids. 1. ed. Amsterdam: Elsevier, Acad. Press; 2014. p 7-32. (The enzymes).
- ↪ BOGAERTS J, SYDES MR, KEAT N, *et al.* Clinical trial designs for rare diseases: studies developed and discussed by the International Rare Cancers Initiative. *Eur J Cancer*. 2015; 51:271–81.
- ↪ BRANDÃO HN, DAVID JP DE L, COUTO RD, NASCIMENTO JA, DAVID JM. Química e farmacologia de quimioterápicos antineoplásicos derivados de plantas. *Quim. Nova*. 2010,33(6): 1359-1369
- ↪ BRASIL. Ministério da saúde. PORTARIA Nº 2.009, DE 13 DE SETEMBRO DE 2012.
- ↪ CAIADO R, RANGEL LA, QUELHAS OLG, NASCIMENTO G. Metodologia de revisão sistemática da literatura com aplicação do método de apoio multicritério à decisão smarter. *INOVARSE*. 2016.
- ↪ CAMBRUZZI E; ZETTLER C G; PÊGAS K L; WANDERLEI A B S; KAERCHER-JUNIOR D; DUARTE M R; PENNO A K; GIANISSELLA G; BASSO M G. Perfil e prevalência dos tumores primários do sistema nervoso central. Artigos Originais. *Revista Da AMRIGS*. 2010. 4 (1): 7-12.
- ↪ CARVALHEIRO J DA R, QUENTAL C. Registro de ensaios clínicos: a discussão internacional e os posicionamentos possíveis para o Brasil. *R. Eletr. de Com. Inf. Inov. Saúde*. 2007,1(1):63-69.
- ↪ CARVALHO APV, SILVA V, GRANDE AJ. Avaliação do risco de viés de ensaios clínicos randomizados pela ferramenta da colaboração Cochrane. *Revista Diagnóstico e Tratamento*. 2013;18:38–44.
- ↪ CASTRO RCF. Registros de ensaios clínicos e as consequências para as publicações científicas. *Medicina (Ribeirão Preto)* 2009;42(1): 31-35.
- ↪ CHEN T, DA FONSECA C, SCHÖNTHAL A. Perillyl Alcohol and Its Drug-Conjugated Derivatives as Potential Novel Methods of Treating Brain Metastases. *International Journal of Molecular Sciences* . 2016 Sep 2;17(9):1463.
- ↪ CHEN TC, DA FONSECA CO, SCHÖNTHAL AH. Preclinical development and clinical use of perillyl alcohol for chemoprevention and cancer therapy. *American journal of cancer research*. 2015;5(5):1580.
- ↪ CHOW H-HS, SALAZAR D, HAKIM IA. Pharmacokinetics of Perillic Acid in Humans after a Single Dose Administration of a Citrus Preparation Rich in d-Limonene Content. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2002;11(11):1472–6.
- ↪ COCHRANE COLLABORATION. *Cochrane handbook for Systematic review of Interventions*. Version 5.1.0, 2011.

- ↪ COSTA E. Segurança na administração de medicamentos antineoplásicos: conhecimentos e ações de profissionais de enfermagem. [Goiânia]: Universidade Federal de Goiás; 2012.
- ↪ CROWELL PL, ELSON CE, BAILEY HH, ELEGBEDE A, HAAG JD, GOULD MN. Human metabolism of the experimental cancer therapeutic agent d-limonene. *Cancer chemotherapy and pharmacology*. 1994;35(1):31-7.
- ↪ CTCAE. Common Terminology Criteria for Adverse Events. *Cancer Therapy Evaluation Program*. 2006. V3.0
- ↪ DA FONSECA CO, LINDEN R, FUTURO D, GATTASS CR, QUIRICO-SANTOS T. Ras pathway activation in gliomas: a strategic target for intranasal administration of perillyl alcohol. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*. agosto de 2008b;56(4):267-76.
- ↪ DA FONSECA CO, SCHWARTSMANN G, FISCHER J, NAGEL J, FUTURO D, QUIRICO-SANTOS T, et al. Preliminary results from a phase I/II study of perillyl alcohol intranasal administration in adults with recurrent malignant gliomas. *Surgical Neurology*. 2008a;70(3):259-66.
- ↪ DA FONSECA CO, TEIXEIRA RM, SILVA JC, DE SALDANHA DA GAMA FISCHER J, MEIRELLES OC, LANDEIRO JA, QUIRICO-SANTOS T. Long-term outcome in patients with recurrent malignant glioma treated with Perillyl alcohol inhalation. *Anticancer Res*. 2013;33(12):5625-31.
- ↪ DA FONSECA CO, MASINI M, FUTURO D, CAETANO R, GATTASS CR, QUIRICO-SANTOS T. Anaplastic oligodendroglioma responding favorably to intranasal delivery of perillyl alcohol: a case report and literature review. *Surg Neurol*. 2006;66(6):611-5.
- ↪ DA FONSECA CO, SILVA JT, LINS IR, SIMÃO M, ARNOBIO A, FUTURO D, QUIRICO-SANTOS T. Correlation of tumor topography and peritumoral edema of recurrent malignant gliomas with therapeutic response to intranasal administration of perillyl alcohol. *Invest New Drugs*. 2009;27(6):557-64.
- ↪ DA FONSECA, C.O., SIMÃO, M., LINS, I.R. et al. Efficacy of monoterpene perillyl alcohol upon survival rate of patients with recurrent glioblastoma. *J Cancer Res Clin Oncol* (2011) 137: 287.
- ↪ DA SILVEIRA F DAS CA, LOPES B DE A, DA FONSECA CO, QUIRICO-SANTOS T, DE PALMER PAIXÃO ICN, DE AMORIM LM DA F. Analysis of EGF+61A>G polymorphism and EGF serum levels in Brazilian glioma patients treated with perillyl alcohol-based therapy. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*. agosto de 2012;138(8):1347-54.
- ↪ DUNN AG, COIERA E, BOURGEOIS FT. Unreported links between trial registrations and published articles were identified using document similarity measures in a cross-sectional analysis of ClinicalTrials.gov. *J Clin Epidemiol*. 2017. pii: S0895-4356(17)30596-6.

- ↪ FISCHER JDE S, CARVALHO PC, NEVES-FERREIRA AG, DA FONSECA CO, PERALES J, CARVALHO MDA G, DOMONT GB. Anti-thrombin as a prognostic biomarker candidate for patients with recurrent glioblastoma multiform under treatment with perillylalcohol. *J Exp Ther Oncol*. 2008;7(4):285-90.
- ↪ FOGLIO MA, QUEIROGA CL, SOUSA I DE O, RODRIGUES RAF. Plantas medicinais como fonte de recursos terapêuticos: um modelo multidisciplinar. *Construindo a história dos produtos naturais*. 2006;7:1-8.
- ↪ GELB MH, TAMANOI F, YOKOYAMA K, GHOMASHCHI F, ESSON K, GOULD MN. The inhibition of protein prenyltransferases by oxygenated metabolites of limonene and perillyl alcohol. *Cancer Lett*. 1995;91(2):169-75.
- ↪ GILMAN, A. G. *As Bases farmacológicas da Terapêutica*. 10 edição. Rio de Janeiro: Mc-Graw Hill, 2005, p
- ↪ GOMES AC, MELLO AL, RIBEIRO MG, GARCIA DG, DA FONSECA CO, SALAZAR MD, SCHÖNTHAL AH, QUIRICO-SANTOS T. Perillyl alcohol, a pleiotropic natural compound suitable for brain tumor therapy, targets free radicals. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*. 2017.
- ↪ GOMES R DE P, PIMENTEL VP, LANDIM AB, PIERONI JP. Ensaios clínicos no Brasil: competitividade internacional e desafios. *BNDES Setorial*, n 36, set 2012, p 45-84. 2012
- ↪ GREENWALD P. Clinical trials in cancer Prevention: current results and perspectives for the future. *J Nutr*. 2004;134(12 Suppl):3507S-3512S.
- ↪ GUIMARÃES CA. Clinical trials register. *Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões*. 2007; 34(3):201-204.
- ↪ HOCHMAN B, NAHAS FX, OLIVEIRA FILHO RS DE, FERREIRA LM. Research designs. *Acta Cirúrgica Brasileira*. 2005;20:2-9.
- ↪ HOLSTEIN SA. Monoterpene regulation of Ras and Ras-related protein expression. *The Journal of Lipid Research*. 2003;44(6):1209-15.
- ↪ HUDES GR, SZARKA C, ADAMS A, RANGANATHAN S, MCCAULEY R, WEINER L, et al. Phase I Pharmacokinetic Trial of Perillyl Alcohol (NSC641066) in Patients with Refractory Solid Malignancies. *Clinical Cancer Research*. 2000;6:3071-80.
- ↪ IARC. International Agency for Research on Cancer. Disponível em: www.iarc.fr. Acessado em 25/02/2018.
- ↪ ICH E6(R1). International Council for Harmonisation of Technical Requirements for PHARMACEUTICALS for HUMAN USE. ICH Harmonised Guideline Integrated Addendum to ICH E6(R1): *Guideline for Good Clinical Practice E6(R2) Current Step 4 version 09 Nov 2016*

- ↪ ICTRP. *International Clinical Trials Registry Platform* site oficial: www.who.int/ictrp. Acessado em: 16/01/2018.
- ↪ INCA. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. A situação do câncer no Brasil/Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, *Instituto Nacional de Câncer, Coordenação de Prevenção e Vigilância*.-Rio de Janeiro: INCA, 2006. P 10.
- ↪ INCA. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Estimativa 2018: incidência de câncer no Brasil / Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. *Coordenação de Prevenção e Vigilância*. – Rio de Janeiro: INCA, 2017.
- ↪ INCA. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Estimativa 2016: incidência de câncer no Brasil / Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva – Rio de Janeiro: INCA, 2015.
- ↪ ISOJARVI J, WOOD H, LEFEBVRE C, GLANVILLE J. Challenges of identifying unpublished data from clinical trials: getting the best out of clinical trials registers and other novel sources. *Res Synth Methods*. 2018.
- ↪ JÚNIOR MRM, PASTORE GM. Biotransformação de limoneno: uma revisão das principais rotas metabólicas. *Química Nova*. 2007;30(2):382–387.
- ↪ KARLBERG JPE, SPEERS MA. Reviewing clinical trials: a guide for the ethics committee. *Hong Kong: Clinical Trials Centre*; 2010.
- ↪ KELLOFF GJ, CROWELL JA, HAWK ET, STEELE VE, LUBET RA, BOONE CW, et al. Strategy and planning for chemopreventive drug development: clinical development plans II. *Journal of Cellular Biochemistry*. 1996;63(S26):54–71.
- ↪ LANG JE, MILLER JA, NOKES BT, LEBEAU LG, DELBRIDGE M, CHOW HHS. A phase i trial of D-limonene in newly diagnosed breast cancer patients: A chemoprevention study. *Cancer Research*. 2011;71(24).
- ↪ LARIBI B, KOUKI K, M'HAMDI M, BETTAIEB T. Coriander (*Coriandrum sativum* L.) and its bioactive constituents. *Fitoterapia*. 2015;103:9-26
- ↪ LE TOURNEAU C, LEE JJ, SIU LL. Dose Escalation Methods in Phase I Cancer Clinical Trials. *JNCI*. 2009;101(10): 708-720.
- ↪ LIU G, OETTEL K, BAILEY H, UMMERSEN LV, TUTSCH K, STAAB MJ, HORVATH D, ALBERTI D, ARZOOMANIAN R, REZAZADEH H, MCGOVERN J, ROBINSON E, DEMETS D, WILDING G. Phase II trial of perillyl alcohol (NSC 641066) administered daily in patients with metastatic androgen independent prostate cancer. *Invest New Drugs*. 2003;21(3):367-72.
- ↪ LOPES A L M, FRACOLLI L A. Revisão sistemática de literatura e metassíntese qualitativa: considerações sobre sua aplicação na pesquisa em enfermagem. *Texto contexto enferm*, 2008; 17(4): 771-8.

- ↪ MANN, J.; Natural products in cancer chemotherapy: past, present and future. *Nat. Rev. Cancer.* 2002,2, 143.
- ↪ MARCONI, Marina de Andrade; LAKATOS, Eva. *Técnicas de Pesquisa.* Ed. Atlas S.A. 6º edição. São Paulo. 2007.
- ↪ MARTINEZ, M; FRANCISCO, G.; CABRAL, L.; RUIZ, I.; NETO, C. Genética molecular aplicada ao câncer cutâneo não melanoma. *An Bras Dermatol.* 2006;81(5):405-19.
- ↪ MATOS JM, SCHMIDT CM, THOMAS HJ, CUMMINGS OW, WIEBKE EA, MADURA JA, PATRICK LJ SR, CROWELL PL. A pilot study of perillyl alcohol in pancreatic cancer. *J Surg Res.* 2008 Jun 15;147(2):194-9.
- ↪ MAZZAFERRO S, BOUCHEMAL K, PONCHEL G. Oral delivery of anticancer drugs I: general considerations. *Drug Discov Today.* 2013 Jan;18(1-2):25-34.
- ↪ MEADOWS, S.M., MULKERIN, D., BERLIN, J. et al. Phase II trial of perillyl alcohol in patients with metastatic colorectal cancer. *Int J Gastrointest Canc* (2002) 32: 125.
- ↪ MELNYK, B. M. The evidence-based practice mentor: A promising strategy for implementing and sustaining EBP in healthcare systems [editorial]. *Worldviews on Evidence-Based Nursing.* 2007. 4(3), 123–125.
- ↪ MENDES G A; ONGARATTI B R; PEREIRA-LIMA J F S. Epidemiologia de uma série de tumores primários do sistema nervoso central. *Arq Bras Neurocir.* 2014. 33(4): 279-83.
- ↪ MILLER JA, HAKIM IA, CHEW W, THOMPSON P, THOMSON CA, CHOW HHS. Adipose tissue accumulation of d-limonene with the consumption of a lemonade preparation rich in d-limonene content. *Nutrition and Cancer.* 2010;62(6):783-8.
- ↪ MILLER JA, LANG JE, HSU CH, LEY M, WAER AL, CORDOVA C, et al. A pilot clinical study of limonene in women with early stage breast cancer: Effects of short-term treatment on tissue limonene disposition and serum markers. *Cancer Research.* 2012;72(8).
- ↪ MILLER JA, LANG JE, LEY M, NAGLE R, HSU C-H, THOMPSON PA, et al. Human Breast Tissue Disposition and Bioactivity of Limonene in Women with Early-Stage Breast Cancer. *Cancer Prevention Research.* 2013;6(6):577–84.
- ↪ MILLER JA, LANG JE, LEY M, NAGLE R, HSU CH, THOMPSON PA, et al. Human breast tissue disposition and bioactivity of limonene in women with early-stage breast cancer. *Cancer Prevention Research.* 2013;6(6):577-84.
- ↪ MILLER JA, PAPPAN K, THOMPSON PA, WANT EJ, SISKOS AP, KEUN HC, et al. Plasma Metabolomic Profiles of Breast Cancer Patients after Short-term Limonene Intervention. *Cancer Prevention Research.* 2015;8(1).

- ↪ MOHER D, LIBERATI A, TETZLAFF J, ALTMAN DG. Principais itens para relatar Revisões sistemáticas e Meta-análises: A recomendação PRISMA. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*. 2015;24(2):335–42.
- ↪ MORGAN-MEADOWS S, DUBEY S, GOULD M, TUTSCH K, MARNOCHA R, ARZOOMANIAN R, et al. Phase I trial of perillyl alcohol administered four times daily continuously. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2003;52:361–6.
- ↪ MURREN JR, PIZZORNO G, DISTASIO SA, MCKEON A, PECCERILLO K, GOLLERKARI A, et al. Phase I Study of Perillyl Alcohol in Patients with Refractory Malignancies. *Cancer Biology & Therapy*. 2002;1(2):130–5.
- ↪ NACI H, ALEXANDER GC. Regulators Should Better Leverage Effectiveness Standards to Enhance Drug Value. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*. 2014;34(10):1005–11.
- ↪ NCI-DCPC. Clinical development plan: I-perillyl alcohol. *Journal of Cellular Biochemistry*. 1996;26S:137–48.
- ↪ OMARI-SIAW E, ZHU Y, WANG H, PENG W, FIREMPONG CK, WANG YW, CAO X, DENG W, YU J, XU X. Hypolipidemic potential of perillaldehyde-loaded self-nanoemulsifying delivery system in high-fat diet induced hyperlipidemic mice: formulation, in vitro and in vivo evaluation. *Eur. J. Pharm. Sci*. 2016; 85,112-122.
- ↪ O'SHAUGHNESSY JA. Chemoprevention of breast cancer. *JAMA*. 1996 May 1;275(17):1349-53.
- ↪ PEREIRA A. Revisão sistemática da literatura sobre produtos usados no tratamento de feridas. [Goiânia]: Universidade Federal De Goiás; 2006.
- ↪ PETERSON A, BANSAL A, HOFMAN F, CHEN TC, ZADA G. A systematic review of inhaled intranasal therapy for central nervous system neoplasms: an emerging therapeutic option. *J Neurooncol*. 2014 Feb;116(3):437-46
- ↪ PETROW A. Qualidade dos dados dos estudos clínicos e fase III. [Rio de Janeiro]: Fundação Oswaldo Cruz; 2013.
- ↪ PINTO, T; KIKUCHI, I. Implicações clínicas de drogas antineoplásicas mutagênicas. *RBM*. 2005: 201-205.
- ↪ QUENTAL C, SALLES FILHO S. Ensaios clínicos: capacitação nacional para avaliação de medicamentos e vacinas. *Rev Bras Epidemiol*. 2006; 9(4): 408-24.
- ↪ REBEC. Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos. www.ensaiosclinicos.gov.br. Acessado em 16/01/2018.
- ↪ RIPPLE G, GOULD M, ARZOOMANIAN R, ALBERTI D, FEIERABEND C, SIMON K, et al. Phase I Clinical and Pharmacokinetic Study of Perillyl Alcohol Administered Four Times a Day. *Clinical Cancer Research*. 2000;6:390–6.

- ↪ RIPPLE G, GOULD M, STEWART, J, TUTSCH K, ARZOOMANIAN R, ALBERTI D, et al. Phase I Clinical Trial of Perillyl Alcohol Administered Daily'. *Clinical Cancer Research*.1998;4:1159–64.
- ↪ RISING K, BACCHETTI P, BERO L. Reporting bias in drug trials submitted to the Food and Drug Administration: Review of publication and presentation. *PLoS Med*. 2008. 5(11): e217.
- ↪ SAMPAIO RF, MANCINI MC. Systematic review studies: a guide for careful synthesis of the scientific evidence. *Brazilian Journal of Physical Therapy*. 2007;11(1):83–9.
- ↪ SANTOS C. Revisão sistemática sobre tratamento tópico de lesões vegetantes malignas. [São Paulo]: Universidade de São Paulo; 2007.
- ↪ SCHMIDT L, GOEN T. R-Limonene metabolism in humans and metabolite kinetics after oral administration. *Archives of Toxicology*. 2017;91(3):1175-85.
- ↪ SECA AML, PINTO DCGA. Plant Secondary Metabolites as Anticancer Agents: Successes in Clinical Trials and Therapeutic Application. *Int J Mol Sci*. 2018 Jan 16;19(1).
- ↪ SERRANO, R.; THEODORO, T.; PINHAL, M. Oncogenes, genes supressores de tumores, microRNAs e o desenvolvimento de tumores. *RBM* .2014 .V 71 n esp a2. (4-10)
- ↪ SHERMAN EJ, RUBIN DM, VENKATRAMAN E, SCHWARTZ GK, MILLER VA, RADZYNER MH, et al. Using Patients As Their Own Controls for Cost Evaluation of Phase I Clinical Trials. *Journal of Clinical Oncology*.2004;22(7):1308–14.
- ↪ SILVA MM, DA FONSECA CO, MOURA-NETO R, CARVALHO JF, QUIRICO-SANTOS T, CARVALHO MG. Influence of GSTM1 and GSTT1 polymorphisms on the survival rate of patients with malignant glioma under perillyl alcohol-based therapy. *Genetics and Molecular Research*. 2013;12(2):1621–30.
- ↪ SONG X, XIE L, WANG X, ZENG Q, CHEN TC, WANG W, SONG X. Temozolomide-perillyl alcohol conjugate induced reactive oxygen species accumulation contributes to its cytotoxicity against non-small cell lung cancer. *Sci Rep*. 2016 ,7;6:22762.
- ↪ SOUZA RF. O que é um estudo clínico randomizado? *Medicina (Ribeirao Preto Online)*. 2009;42(1):3–8.
- ↪ STEARNS, V, COOP A, SINGH B, GALLAGHER A, YAMAUCHI H, LIEBERMAN R, et al. A Pilot Surrogate End Point Biomarker Trial of Perillyl Alcohol in Breast Neoplasia. *Clinical Cancer Research*. 2004;10:7583–91.
- ↪ STRATTON S, SABODA KL, MYRDAL P, GUPTA A, MCKENZIE N, BROOKS C, SALASCHA S, WARNEKE J, RANGER-MOORE J, BOZZO P, BLANCHARD J, EINSPAHR J. Phase 1 Study of Topical Perillyl Alcohol Cream for Chemoprevention of Skin Cancer. *Nutrition and Cancer*.2008;60(3):325–30.

- STRATTON SP, ALBERTS DS, EINSPAHR JG, SAGERMAN PM, WARNEKE JA, CUIEL-LEWANDROWSKI C, MYRDAL PB, KARLAGE KL, NICKOLOFF BJ, BROOKS C, SABODA K, YOZWIAK ML, KRUTZSCH MF, HU C, LLURIA-PREVATT M, DONG Z, BOWDEN GT, BARTELS PH. A phase 2a study of topical perillyl alcohol cream for chemoprevention of skin cancer. *Cancer Prev Res (Phila)*. 2010;3(2):160-9.
- THOMSON REUTERS. Thomson Reuters Integrity: conhecimento essencial para aprimorar a descoberta e desenvolvimento de fármacos. 2012.
- VIGUSHIN DM, POON GK, BODDY A, ENGLISH J, HALBERT GW, PAGONIS C, *et al*. Phase I and pharmacokinetic study of D-limonene in patients with advanced cancer. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*. 1998;42(2):111-7.
- WHYSNER J, WILLIAMS GM. D-limonene mechanistic data and risk assessment: absolute species-specific cytotoxicity, enhanced cell proliferation, and tumor promotion. *Pharmacology & Therapeutics*. 1996;71(1-2):127-36.
- XAVIER D. Fisioterapia Onco Funcional Para A Graduação. *Clube de Autores*; 2007: 47-77.
- YADAV SK, PARVEZ N, SHARMA PK. An Overview and New Strategies to Improve Formulation Development of Anticancer Drugs. *Advances in Biological Research*, 2014; 8 (6): 233-243.
- YERUVA L, PIERRE KJ, ELEGBEDE A, WANG RC, CARPER SW. Perillyl alcohol and perillic acid induced cell cycle arrest and apoptosis in non small cell lung cancer cells. *Cancer Letters*. 2007;257(2):216–26.
- ZARIN DA, IDE NC, TSE T, HARLAN WR, WEST JC, LINDBERG DAB. Issues in the Registration of Clinical Trials. *JAMA*. 2007;297(19):2112–20.
- ZARIN DA, TSE T, WILLIAMS RJ, CARR S. Trial Reporting in ClinicalTrials.gov — The Final Rule. *The New England Journal O F Medicine*. 2016.
- ZUCCHETTI C, MORRONE FB. Perfil da pesquisa clínica no Brasil. *Revista HCPA*. 2012;32(3):340-34

APÊNDICE A – Protocolo da revisão sistemática deste estudo.

PROSPERO
International prospective register of systematic reviews



Limonene, perillyl alcohol, perillic acid and perillaldehyde as anticancer agents: a systematic review

Maria Antonietta Ferrara, Francisco Paumgarten, Paula Santos, Antonio Carlos Siani

Citation

Maria Antonietta Ferrara, Francisco Paumgarten, Paula Santos, Antonio Carlos Siani. Limonene, perillyl alcohol, perillic acid and perillaldehyde as anticancer agents: a systematic review. PROSPERO 2018 CRD42018082207 Available from: http://www.crd.york.ac.uk/PROSPERO/display_record.php?ID=CRD42018082207

Review question

What is the evidence in humans that limonene, perillyl alcohol, perillic acid and perillaldehyde are effective and safe treatments for cancer (of any type) and precancerous lesions?

Searches

This systematic review will be conducted in accordance with PRISMA guidelines and Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions version 5.1.0.

The search will include electronic databases for biomedical literature as follows PubMed, Embase, The Cochrane Central Register of Controlled Trials (CENTRAL), Scopus, ISI Web of Science, SciELO e LILACS. Moreover, clinical trial register databases (such as ClinicalTrials.gov, ICTRP and ReBEC) will be searched to identify any relevant study or protocol. A supplemental manual search in reference lists of articles and documents will be performed to identify any relevant study that was not detected in the electronic databases.

Electronic databases will be searched for articles published in any language from the date of inception of the database to the date of the search.

Types of study to be included

Studies to be included: any trial on the use of limonene, or perillyl alcohol, or perillic acid, or perillaldehyde to treat human patients with cancer (any type) or precancerous lesions.

Exclusion criteria: case reports; systematic reviews; studies on the use of limonene, or perillyl alcohol, perillic acid or perillaldehyde in combination with other drugs; cost-effectiveness studies; studies in vivo, in vitro or ex vivo; pharmacokinetics clinical trials; and trials in animals .

Condition or domain being studied

Cancer treatment
Cancer prevention

Participants/population

Patient with cancer (of any type) and/or precancerous lesions

Intervention(s), exposure(s)

Cancer patient or patient with precancerous lesion treated with limonene, or perillyl alcohol, or perillic acid or perillaldehyde.

PROSPERO**International prospective register of systematic reviews***National Institute for
Health Research***Comparator(s)/control**

Any active or inactive comparator. It may also include a historical (non-concurrent) control group or prior patients with the same disorder.

Primary outcome(s)**Effectiveness (OS)**

- Disease-Free Survival (DFS)
- Progression-Free Survival (PFS)
- Time to Tumor Progression (TTP)
- Stable Disease (SD)
- Health-related Quality of Life (QoL)

Safety outcome:

- Adverse effects

Secondary outcome(s)

None specified

Data extraction (selection and coding)

Two distinct reviewers that will not be blinded to author or journal information will independently screen the abstracts and titles. For this task, the reviewers will use the Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions. All potentially eligible studies will be obtained as full publications and be fully examined. Both reviewers will be responsible for resolving any discrepancies about the eligibility of the study. If this is not enough to resolve the discrepancy, a third reviewer will be asked to achieve a decision.

The two reviewers will independently extract information from the studies selected for final inclusion. Any discrepancies regarding data extraction by the two reviewers will be resolved by consensus. In the case of no consensus remaining, a third reviewer will be consulted.

A data extraction form will be designed to extract relevant information as follows:

- article reference
- register of the clinical trial register if it is available
- cancer type
- study design
- study phase
- comparator
- participants number
- inclusion and exclusion criteria for eligibility in the clinical trial
- dosage
- administration route
- drug concentration
- formulation of the medicine
- administration protocol
- primary and secondary endpoint
- primary and secondary outcomes
- reported adverse effects and quantitative of persons affected by each one
- limitations of studies
- Authors' conclusion

Risk of bias (quality) assessment

Two reviewers will assess risk of bias independently using the risk of bias tool described in the Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions. The reviewers will provide their judgment on the risk of



National Institute for
Health Research

PROSPERO

International prospective register of systematic reviews

bias by marking their levels as 'high', 'low' or 'unclear' for each included study. Such an evaluation will be based on considering the following methodological characteristics: sequence generation, allocation concealment, blinding of participants and personnel, blinding of outcome assessment, incomplete outcome data, selective outcome reporting and 'other' potential sources of bias. A third review author will adjudicate discrepancies regarding the risk of bias that were not resolved by consensus when necessary.

Strategy for data synthesis

A narrative (qualitative) synthesis of the findings from the included studies will be provided.

Analysis of subgroups or subsets

None planned.

Contact details for further information

Paula Santos

pagosantos@yahoo.com.br

Organisational affiliation of the review

Drug Technology Institute (Farmanguinhos) - Oswaldo Cruz Foundation (FIOCRUZ)

Review team members and their organisational affiliations

Dr Maria Antonieta Ferrara. Drug Technology Institute (Farmanguinhos)

Dr Francisco Paumgartien. National School of Public Health (ENSP)

Ms Paula Santos. Drug Technology Institute (Farmanguinhos)

Dr Antonio Carlos Siani. Drug Technology Institute (Farmanguinhos)

Anticipated or actual start date

23 November 2017

Anticipated completion date

31 March 2018

Funding sources/sponsors

FIOTEC

Conflicts of interest

Language

English, French, German, Portuguese-Brazil, Spanish

Country

Brazil

Stage of review

Review_Ongoing

Subject index terms status

Subject Indexing assigned by CRD

Subject index terms

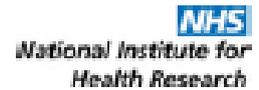
Antineoplastic Agents; Cyclohexenes; Humans; Monoterpenes; Terpenes; Ilmonene; perilla alcohol; perillaaldehyde; perillic acid

Date of registration in PROSPERO

04 January 2018

Date of publication of this version

PROSPERO
International prospective register of systematic reviews



04 January 2018

Details of any existing review of the same topic by the same authors

Stage of review at time of this submission

Stage	Started	Completed
Preliminary searches	Yes	No
Piloting of the study selection process	Yes	No
Formal screening of search results against eligibility criteria	No	No
Data extraction	No	No
Risk of bias (quality) assessment	No	No
Data analysis	No	No

Versions

04 January 2018

PROSPERO

This information has been provided by the named contact for this review. CRD has accepted this information in good faith and registered the review in PROSPERO. CRD bears no responsibility or liability for the content of this registration record, any associated files or external websites.

OR antineoplasticity[All Fields] OR antineoplasticka[All Fields] OR antineoplasticke[All Fields] OR antineoplastickej[All Fields] OR antineoplasticky[All Fields] OR antineoplastickyh[All Fields] OR antineoplastickym[All Fields] OR antineoplastickymucinkem[All Fields] OR antineoplasticni[All Fields] OR antineoplasticnim[All Fields] OR antineoplasticnom[All Fields] OR antineoplastico[All Fields] OR antineoplastics[All Fields] OR antineoplastics[All Fields] OR antineoplastik[All Fields] OR antineoplastika[All Fields] OR antineoplastikus[All Fields] OR antineoplastin[All Fields] OR antineoplastique[All Fields] OR antineoplastisch[All Fields] OR antineoplastische[All Fields] OR antineoplastischen[All Fields] OR antineoplastischer[All Fields] OR antineoplastisk[All Fields] OR antineoplastiske[All Fields] OR antineoplastista[All Fields] OR antineoplaston[All Fields] OR antineoplastones[All Fields] OR antineoplastons[All Fields] OR antineoplastons'[All Fields]) OR CYTOTOXICITY[All Fields]))

APÊNDICE C – Lista de referências excluídas da revisão sistemática após leitura do texto na íntegra

REFERÊNCIAS	TÍTULO DO ARTIGO	MOTIVO DA EXCLUSÃO
SCHMIDT & GOEN, 2016	<i>R-Limonene metabolism in humans and metabolite kinetics after oral administration</i>	Estudos clínicos de farmacocinética com pessoas saudáveis
CHOW <i>et al.</i> , 2002	<i>Pharmacokinetics of perillic acid in humans after a single dose administration of a citrus preparation rich in d-limonene content</i>	
CROWELL <i>et al.</i> , 1994	<i>Human metabolism of the experimental cancer therapeutic agent d-limonene</i>	
MILLER <i>et al.</i> , 2010	<i>Adipose tissue accumulation of d-limonene with the consumption of a lemonade preparation rich in d-limonene content</i>	
MILLER <i>et al.</i> , 2015	<i>Plasma Metabolomic Profiles of Breast Cancer Patients after Short-term Limonene Intervention</i>	Utiliza como desfecho de eficácia biomarcadores
VIGUSHIN <i>et al.</i> , 1998	<i>Phase I and pharmacokinetic study of D-limonene in patients with advanced cancer</i>	
LANG <i>et al.</i> , 2011	<i>A phase I trial of D-limonene in newly diagnosed breast cancer patients: A chemoprevention study</i>	Poster
MILLER <i>et al.</i> , 2012	<i>A pilot clinical study of limonene in women with early stage breast cancer: Effects of short-term treatment on tissue limonene disposition and serum markers</i>	Abstract
SILVA <i>et al.</i> , 2013	<i>Influence of GSTM1 and GSTT1 polymorphisms on the survival rate of patients with malignant glioma under perillyl alcohol-based therapy</i>	Caso-contrôle
FISCHER <i>et al.</i> , 2008	<i>Anti-thrombin as a prognostic biomarker candidate for patients with recurrent glioblastoma multiform under treatment with perillyl alcohol</i>	Utiliza biomarcadores como desfecho
DA FONSECA <i>et al.</i> , 2009	<i>Correlation of tumor topography and peritumoral edema of recurrent malignant gliomas with therapeutic response to intranasal administration of perillyl alcohol</i>	Estudo retrospectivo
DA FONSECA <i>et al.</i> , 2008a	<i>Preliminary results from a phase I/II study of perillyl alcohol intranasal administration in adults with recurrent malignant gliomas</i>	duplicata
DA FONSECA <i>et al.</i> , 2006	<i>Anaplastic oligodendroglioma responding favorably to intranasal delivery of perillyl alcohol</i>	Reporte de caso
SHERMAN <i>et al.</i> , 2004	<i>Using patients as their own controls for cost evaluation of phase I clinical trials</i>	Estudo de Custo-efetividade

APÊNDICE D – Os artigos encontrados nas buscas utilizando álcool perílico para tratar tumores malignos cerebrais.

REF	CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO ESTUDADA	ESQUEMA TERAPÊUTICO	TIPO DE ESTUDO	DESEFECHO DE EFICÁCIA E SEGURANÇA	RESULTADO	CONCLUSÃO DOS AUTORES	
DA FONSECA <i>et al.</i> , 2016	subgrupo de 19 indivíduos a partir de 198 11 mulheres e 9 homens (18-62 anos) 2006-2014 SEM EDEMA PERITUMORAL	Astrocitoma: 19 Oligodendrioglioma: 1	4 x ao dia 55mg; 0,3% v/v totalizando 266,8 mg/dia	Neste trabalho só disseram que era um estudo prospectivo	Alteração do potencial dipolo. Tolerabilidade. Sobrevida livre de progressão por mais de 5 anos	O pico interfacial é levemente maior. No início do tratamento 33% reclamaram de dor de cabeça intensa. 2 indivíduos tiveram regressão e 18 tiveram estabilização.	O POH entra dentro da célula e interfere com componentes da bicamada lipídica, o que contribui para eficácia terapêutica prevenindo a progressão da doença.
SILVA <i>et al.</i> , 2013	95 indivíduos 43 mulheres e 52 homens (19-83 anos) Não foi declarado o tempo	Glioblastoma: 71 Astrocitoma: 13 Oligodendrioglioma: 11	4 x ao dia 55mg; 0,3% v/v totalizando 266,8 mg/dia	Controlado Controle: 100 indivíduos saudáveis sem histórico de câncer cerebral na família, doença infecciosa ou uso de anti-inflamatório.	Correlação entre os genótipos e a sobrevivência média. Correlação da localização do tumor, dos genótipos e a sobrevivência.	Associação negativa entre a deleção do gene GSTT1 e a ocorrência de gliomas malignos.	A deleção GSTT1 pode exercer papel protetor contra a gliomagenese, influenciando a resposta terapêutica ao POH e aumentando a sobrevivência global.
DA FONSECA <i>et al.</i> , 2013	198 indivíduos 81 mulheres e 117 homens (28-69 anos) 2006-2012	Glioblastoma: 155 Astrocitoma: 27 Oligodendrioglioma: 16	4 x ao dia Escalonamento: 1) 55mg/dose; 0,3% v/v totalizando 266,8 mg/dia 2) 133,4mg/dose; 4 x ao dia 533,6 mg/dia	Citou que a inclusão dos indivíduos foi randômica mas não explicou de que forma.	Sobrevida livre de progressão em 6 meses Efeitos Adversos	Após 6 meses: 48,2% GBM 60% AA 66,6% AO Taxa de sobrevivência após 24 meses: 6,2% GBM 1° 63% GBM 2° 15% AA 56% AO 19% dos indivíduos tiveram uma boa resposta e melhora do quadro. 53% dor de cabeça intensa 29% hemiparesia 25% convulsões 14% confusão mental e náusea 11% falta de memória e 7% alteração de comportamento e déficit de cognição e linguagem 4% insônia	Depois de 4 anos de tratamento com POH, 19% dos indivíduos ainda permanecem em remissão clínica. Quimioterapia prolongada de POH é segura.

REF	CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO ESTUDADA	ESQUEMA TERAPÊUTICO	TIPO DE ESTUDO	DESECHO DE EFICÁCIA E SEGURANÇA	RESULTADO	CONCLUSÃO DOS AUTORES	
DA SILVEIRA <i>et al.</i> , 2012	83 indivíduos 51 homens e 32 mulheres (18-82 anos) 2007-2011	Glioblastoma 1 ^o : 51 Glioblastoma 2 ^o : 32	4 x ao dia escalonado de 220 a 440mg/dia	Controlado e randomizado. Citou que a seleção de indivíduos foi randomica!! As amostras do controle foi obtidas pelo hemorio. Controle: 196 indivíduos	Taxa de sobrevivência	27 indivíduos foram excluídos porque não sobreviveram mais de duas semanas após o início do tratamento. Sobram 56, destes 35 eram GBM 1 ^o e 21 eram GBM 2 ^o . A sobrevivência média foi de 43,3 ± 49,1 semanas. A sobrevivência do GBM2 ^o foi bem maior que o 1 ^o . Indivíduos com níveis de EGF ≤ 250pg/mL tiveram aumento de sobrevivência e também maior frequência do genótipo GG.	Nível de EGF pode ser utilizado com marcador de predição de resposta para o tratamento de POH. Baixo nível de EGF e alelo EGF+61A estão associados com uma sobrevivência maior. O genótipo AA ou o alelo A pode ser considerado fator de risco para GBM 1 ^o .
DA FONSECA <i>et al.</i> , 2011	89 indivíduos 39 mulheres e 50 homens (39-85 anos) 2005 a 2009	Glioblastoma 1 ^o : 83 Glioblastoma 2 ^o : 06	4 x ao dia escalonado de 220 a 440mg/dia	Controle histórico Controle: 52 indivíduos	Sobrevivência Global	GBM 1 ^o : < 3 meses: 57 indivíduos 3-6 meses: 14 indivíduos > 6 meses: 11 indivíduos Não foi realizado para o GBM 2 ^o Tempo de sobrevivência GBM 1 ^o : 5,9 meses GBM 2 ^o : 11,2 meses Controle: 2,3 meses Localização do tumor: Lobar: 65 GBM 1 ^o , 5 GBM 2 ^o e 40 Controle Profundo: 18 GBM 1 ^o , 1 GBM 2 ^o e 12 Controle	A administração intranasal de POH aumentou a sobrevivência global de pacientes com glioblastoma comparado com o controle histórico principalmente o GBM 2 ^o e localizado na região profunda do cérebro.
DA FONSECA <i>et al.</i> , 2009	67 indivíduos 27 mulheres e 40 homens (28-72 anos) Não foi declarado o tempo	Glioblastoma: 52 Astrocitoma: 10 Oligodendrioglioma: 5	440mg/dia Citada apenas na conclusão.	Não foi especificado.	Sobrevivência Global Sobrevivência livre de progressão	SLP de 6 meses: Glioblastoma: 48,2% Astrocitoma: 60% Oligodendrioglioma: 66,6% Localização do tumor: Lobar: 41 GBM, 8 AA e 5 AO Profundo: 11 GBM, 2 AA e 0 AO	Indivíduos com glioma recorrente com localização no ganglio basal sobrevivem mais que os com localização basal. Presença de edema peritumoral contribui para os sintomas, morbidade e potencial de invasão de gliomas. A interação das células do glioma e microambiente cerebral influencia o comportamento das células e o prognóstico.

REF	CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO ESTUDADA	ESQUEMA TERAPÊUTICO	TIPO DE ESTUDO	DESFECHO DE EFICÁCIA E SEGURANÇA	RESULTADO	CONCLUSÃO DOS AUTORES	
DA FONSECA <i>et al.</i> , 2008 b	37 indivíduos 14 mulheres e 23 homens (35-69 anos) Não foi declarado o tempo	Glioblastoma: 29 Astrocitoma: 5 Oligodendrioglioma: 3	4x ao dia 55mg; 0,3% v/v 220mg/dia	Não foi especificado.	Sobrevida livre de progressão Tempo de progressão Sobrevida Global Só vi nos resultados SLP.	SLP de 6 meses: Glioblastoma: 48,2% Astrocitoma: 60% Oligodendrioglioma: 66,6% Resposta parcial: 1 GBM, 0 AA e 1 AO Estabilização da Doença: 13 GBM, 3 AA e 1 AO Progressão da doença: 15 GBM, 2 AA e 1 AO Seguimento: Glioblastoma: 48 semanas Astrocitoma: 48 semanas Oligodendrioglioma: 56 semanas	Regressão do tumor em alguns indivíduos sugerem atividade antitumoral.
DA FONSECA <i>et al.</i> , 2008 a	37 indivíduos Não especificou-se os gêneros (35-69 anos) Não foi declarado o tempo	Glioblastoma: 29 Astrocitoma: 5 Oligodendrioglioma: 3	4x ao dia 55mg; 0,3% v/v 220mg/dia	Não foi especificado.	Sobrevida livre de progressão	SLP de 6 meses: Glioblastoma: 48,2% Astrocitoma: 60% Oligodendrioglioma: 66,6% Resposta parcial: 1 GBM, 0 AA e 1 AO Estabilização da Doença: 13 GBM, 3 AA e 1 AO Progressão da doença: 15 GBM, 2 AA e 1 AO Seguimento: 48 semanas 4 indivíduos com mais de um ano de tratamento não apresentaram sinais de toxicidade. Mortes: febre séptica: 1 pneumonia: 3 tromboembolismo: 1	Não houve eventos tóxicos. POH é bem tolerado e a regressão do tamanho do tumor em alguns indivíduos sugerem atividade antitumoral.

ANEXO 1 – Checklist do Prisma para Revisões Sistemáticas

Seção/tópico	N. Item do checklist	
TÍTULO		
Título	1	Identifique o artigo como uma revisão sistemática, meta-análise, ou ambos.
RESUMO		
Resumo estruturado	2	Apresente um resumo estruturado incluindo, se aplicável: referencial teórico; objetivos; fonte de dados; critérios de elegibilidade; participantes e intervenções; avaliação do estudo e síntese dos métodos; resultados; limitações; conclusões e implicações dos achados principais; número de registro da revisão sistemática.
INTRODUÇÃO		
Racional	3	Descreva a justificativa da revisão no contexto do que já é conhecido.
Objetivos	4	Apresente uma afirmação explícita sobre as questões abordadas com referência a participantes, intervenções, comparações, resultados e delineamento dos estudos (PICOS).
MÉTODOS		
Protocolo e registro	5	Indique se existe um protocolo de revisão, se e onde pode ser acessado (ex. endereço eletrônico), e, se disponível, forneça informações sobre o registro da revisão, incluindo o número de registro.
Crítérios de elegibilidade	6	Especifique características do estudo (ex.: PICOS, extensão do seguimento) e características dos relatos (ex. anos considerados, idioma, a situação da publicação) usadas como critérios de elegibilidade, apresentando justificativa.
Fontes de informação	7	Descreva todas as fontes de informação na busca (ex.: base de dados com datas de cobertura, contato com autores para identificação de estudos adicionais) e data da última busca.
Busca	8	Apresente a estratégia completa de busca eletrônica para pelo menos uma base de dados, incluindo os limites utilizados, de forma que possa ser repetida.
Seleção dos estudos	9	Apresente o processo de seleção dos estudos (isto é, rastreados, elegíveis, incluídos na revisão sistemática, e, se aplicável, incluídos na meta-análise).
Processo de coleta de dados	10	Descreva o método de extração de dados dos artigos (ex.: formulários piloto, de forma independente, em duplicata) e todos os processos para obtenção e confirmação de dados dos pesquisadores.
Lista dos dados	11	Liste e defina todas as variáveis obtidas dos dados (ex.: PICOS, fontes de financiamento) e quaisquer suposições ou simplificações realizadas.
Risco de viés em cada estudo	12	Descreva os métodos usados para avaliar o risco de viés em cada estudo (incluindo a especificação se foi feito no nível dos estudos ou dos resultados), e como esta informação foi usada na análise de dados.
Medidas de sumarização	13	Defina as principais medidas de sumarização dos resultados (ex.: risco relativo, diferença média).
Síntese dos resultados	14	Descreva os métodos de análise dos dados e combinação de resultados dos estudos, se realizados, incluindo medidas de consistência (por exemplo, I ²) para cada meta-análise.
Risco de viés entre estudos	15	Especifique qualquer avaliação do risco de viés que possa influenciar a evidência cumulativa (ex.: viés de publicação, relato seletivo nos estudos).
Análises adicionais	16	Descreva métodos de análise adicional (ex.: análise de sensibilidade ou análise de subgrupos, metarregressão), se realizados, indicando quais foram pré-especificados.
RESULTADOS		
Seleção de estudos	17	Apresente números dos estudos rastreados, avaliados para elegibilidade e incluídos na revisão, razões para exclusão em cada estágio, preferencialmente por meio de gráfico de fluxo.
Características dos estudos	18	Para cada estudo, apresente características para extração dos dados (ex.: tamanho do estudo, PICOS, período de acompanhamento) e apresente as citações.
Risco de viés em cada estudo	19	Apresente dados sobre o risco de viés em cada estudo e, se disponível, alguma avaliação em resultados (ver item 12).
Resultados de estudos individuais	20	Para todos os desfechos considerados (benéficos ou riscos), apresente para cada estudo: (a) sumário simples de dados para cada grupo de intervenção e (b) efeitos estimados e intervalos de confiança, preferencialmente por meio de gráficos de floresta.
Síntese dos resultados	21	Apresente resultados para cada meta-análise feita, incluindo intervalos de confiança e medidas de consistência.
Risco de viés entre estudos	22	Apresente resultados da avaliação de risco de viés entre os estudos (ver item 15).
Análises adicionais	23	Apresente resultados de análises adicionais, se realizadas (ex.: análise de sensibilidade ou subgrupos, metarregressão [ver item 16]).
DISCUSSÃO		
Sumário da evidência	24	Sumarize os resultados principais, incluindo a força de evidência para cada resultado; considere sua relevância para grupos-chave (ex.: profissionais da saúde, usuários e formuladores de políticas).
Limitações	25	Discuta limitações no nível dos estudos e dos desfechos (ex.: risco de viés) e no nível da revisão (ex.: obtenção incompleta de pesquisas identificadas, viés de relato).
Conclusões	26	Apresente a interpretação geral dos resultados no contexto de outras evidências e implicações para futuras pesquisas.
FINANCIAMENTO		
Financiamento	27	Descreva fontes de financiamento para a revisão sistemática e outros suportes (ex.: suprimento de dados); papel dos financiadores na revisão sistemática.

ANEXO 2 – Ferramenta da Colaboração Cochrane para avaliação do risco de viés de ensaios clínicos randomizados

Domínio	Suporte para o julgamento	Julgamento do autor da revisão e critérios para julgamento
Viés de seleção 1. Geração da sequência aleatória	Descrever em detalhe o método utilizado para gerar a sequência aleatória, para permitir avaliar se foi possível produzir grupos comparáveis.	<p>Baixo risco de viés:</p> <p>Tabela de números randômicos; Geração de números randômicos por computador; Arremesso de moeda; Embaralhamento de cartões ou envelopes; Jogando dados; Sorteio; Minimização.</p> <p>Alto risco de viés:</p> <p>Sequência gerada por data par ou ímpar de nascimento; Sequência gerada por alguma regra com base na data (ou dia) de admissão; Sequência gerada por alguma regra baseada no número do prontuário do hospital ou clínica; Alocação pelo julgamento do profissional; Alocação pela preferência do participante; Alocação baseada em resultados de exames ou testes prévios; Alocação pela disponibilidade da intervenção.</p> <p>Risco de viés incerto:</p> <p>Informação insuficiente sobre o processo de geração da sequência aleatória para permitir julgamento.</p>
Viés de seleção 2. Ocultação de alocação	Descrever em detalhes o método utilizado para ocultar a sequência aleatória, para determinarmos se a alocação das intervenções pôde ser prevista antes ou durante o recrutamento dos participantes.	<p>Baixo risco de viés:</p> <p>Ocultação de alocação por uma central; Recipientes de drogas numerados de forma sequencial com aparência idêntica; Envelopes sequenciais numerados, opacos e selados.</p> <p>Alto risco de viés:</p> <p>Utilizando um processo aberto de randomização (exemplo: lista randômica de números); Envelopes sem critérios de segurança (exemplo: envelopes não selados, ou que não sejam opacos ou que não sejam numerados sequencialmente); Alternância ou rotação; Data de nascimento; Número de prontuário; Qualquer outro procedimento que não oculte a alocação.</p> <p>Risco de viés incerto:</p> <p>Informação insuficiente sobre o processo de geração da sequência aleatória para permitir julgamento. Este é o caso se estiver descrito que a ocultação foi realizada utilizando envelopes, mas não estiver claro se foram selados, opacos e numerados sequencialmente.</p>
Viés de performance 3. Cegamento de participantes e profissionais Avaliação deve ser feita para cada desfecho principal (ou classes de desfechos)	Descrever todas as medidas utilizadas para cegar participantes e profissionais envolvidos em relação a qual intervenção foi dada ao participante. Fornecer informações se realmente o cegamento foi efetivo.	<p>Baixo risco de viés:</p> <p>Estudo não cego ou cegamento incompleto, mas os autores da revisão julgam que o desfecho não se altera pela falta de cegamento; Cegamento de participantes e profissionais assegurado, e é improvável que o cegamento tenha sido quebrado.</p> <p>Alto risco de viés:</p> <p>Estudo não cego ou cegamento incompleto, e o desfecho é susceptível de ser influenciado pela falta de cegamento; Tentativa de cegamento dos participantes e profissionais, mas é provável que o cegamento tenha sido quebrado, e o desfecho é influenciado pela falta de cegamento.</p> <p>Risco de viés incerto:</p> <p>Informação insuficiente para julgar como alto risco e baixo risco de viés; O estudo não relata esta informação.</p>

<p>Viés de detecção</p> <p>4. Cegamento de avaliadores de desfecho</p> <p>Avaliação deve ser feita para cada desfecho principal (ou classes de desfechos)</p>	<p>Descrever todas as medidas utilizadas para cegar os avaliadores de desfecho em relação ao conhecimento da intervenção fornecida a cada participante. Fornecer informações se o cegamento pretendido foi efetivo.</p>	<p>Baixo risco de viés:</p> <p>Não cegamento da avaliação dos desfechos, mas os autores da revisão julgam que o desfecho não pode ser influenciado pela falta de cegamento;</p> <p>Cegamento da avaliação dos desfechos foi realizado, e é improvável que o cegamento tenha sido quebrado.</p> <p>Alto risco de viés:</p> <p>Não houve avaliação cega dos desfechos, e os desfechos avaliados são influenciáveis pela falta de cegamento;</p> <p>Os avaliadores de desfechos foram cegos, mas é provável que o cegamento tenha sido quebrado, e o desfecho mensurado pode ter sido influenciado pela falta de cegamento.</p> <p>Risco de viés incerto:</p> <p>Informação insuficiente para julgar como alto risco e baixo risco de viés;</p> <p>O estudo não relata esta informação.</p>
<p>Viés de atrito</p> <p>5. Desfechos incompletos</p> <p>Avaliação deve ser feita para cada desfecho principal (ou classes de desfechos)</p>	<p>Descrever se os dados relacionados aos desfechos estão completos para cada desfecho principal, incluindo perdas e exclusão da análise. Descrever se as perdas e exclusões foram informadas no estudo, assim como suas respectivas razões. Descrever se houve reinclusão de algum participante.</p>	<p>Baixo risco de viés:</p> <p>Não houve perda de dados dos desfechos;</p> <p>Razões para perdas de dados não estão relacionadas ao desfecho de interesse;</p> <p>Perda de dados foi balanceada entre os grupos, com razões semelhantes para perda dos dados entre os grupos;</p> <p>Para dados dicotômicos, a proporção de dados perdidos comparados com o risco observado do evento não é capaz de induzir viés clinicamente relevante na estimativa de efeito;</p> <p>Para desfechos contínuos, estimativa de efeito plausível (diferença média ou diferença média padronizada) nos desfechos perdidos não é capaz de induzir viés clinicamente relevante no tamanho de efeito observado;</p> <p>Dados perdidos foram imputados utilizando-se métodos apropriados.</p> <p>Alto risco de viés:</p> <p>Razões para perda de dados pode estar relacionada ao desfecho investigado, com desequilíbrio na quantidade de pacientes ou razões para perdas entre os grupos de intervenção;</p> <p>Para dados dicotômicos, a proporção de dados perdidos comparada com o risco observado do evento é capaz de induzir viés clinicamente relevante na estimativa de efeito;</p> <p>Para desfechos contínuos, estimativa de efeito plausível (diferença média ou diferença média padronizada) nos desfechos perdidos, capaz de induzir viés clinicamente relevante no tamanho de efeito observado.</p> <p>"As-treated" análise, feita com desvio substancial da intervenção recebida em relação à que foi randomizada;</p> <p>Imputação simples dos dados feita de forma inapropriada.</p> <p>Risco de viés incerto:</p> <p>Relato insuficiente das perdas e exclusões para permitir julgamento (exemplo: número randomizado não relatado, as razões para perdas não foram descritas).</p>
<p>Viés de relato</p> <p>6. Relato de desfecho seletivo</p>	<p>Indicar a possibilidade de os ensaios clínicos randomizados terem selecionado os desfechos ao descrever os resultados do estudo e o que foi identificado.</p>	<p>Baixo risco de viés:</p> <p>O protocolo do estudo está disponível e todos os desfechos primários e secundários pré-especificados que são de interesse da revisão foram reportados de acordo com o que foi proposto;</p> <p>O protocolo do estudo não está disponível, mas está claro que o estudo publicado incluiu todos os desfechos desejados.</p> <p>Alto risco de viés:</p> <p>Nem todos os desfechos primários pré-especificados foram reportados;</p> <p>Um ou mais desfechos primários foram reportados utilizando mensuração, método de análise ou subconjunto de dados que não foram pré-especificados;</p> <p>Um ou mais desfechos primários reportados não foram pré-especificados (a não ser que uma justificativa clara seja fornecida para o relato daquele desfecho, como o surgimento de um efeito adverso inesperado);</p> <p>Um ou mais desfechos de interesse da revisão foram reportados incompletos, e não podem entrar na metanálise;</p> <p>O estudo não incluiu resultados de desfechos importantes que seriam esperados neste tipo de estudo.</p> <p>Risco de viés incerto:</p> <p>Informação insuficiente para permitir julgamento. É provável que a maioria dos estudos caia nesta categoria.</p>
<p>Outros vieses</p> <p>7. Outras fontes de viés</p>	<p>Declarar outro viés que não se enquadra em outro domínio prévio da ferramenta.</p> <p>Se em protocolos de revisões forem pré-especificadas questões neste domínio, cada questão deve ser respondida.</p>	<p>Baixo risco de viés:</p> <p>O estudo parece estar livre de outras fontes de viés.</p> <p>Alto risco de viés:</p> <p>Alto risco relacionado ao delineamento específico do estudo; ou</p> <p>Foi alegado como fraudulento;</p> <p>Teve algum outro problema.</p> <p>Risco de viés incerto:</p> <p>Informação insuficiente para avaliar se um importante risco de viés existe; ou</p> <p>Base lógica insuficiente de que um problema identificado possa introduzir viés.</p>

ANEXO 3 – Patentes potencialmente relevantes ao desenvolvimento do “Projeto Perilato” em Farmanguinhos-Fiocruz

ANO ¹	Nº DA PUBLICAÇÃO	RESUMO	INVENTORES [DETENTOR]
1995	WO9524895 A1	Título: Uso de éster metílico de ácido perílico e álcool perílico para regressão de carcinoma, para inibição da formação de carcinoma e para redução dos níveis séricos de colesterol [texto conforme publ. EUA].	M.N. Gould, P.L. Crowell, C.E. Elson, Z. Ren [WISCONSIN ALUMNI RESEARCH FOUNDATION]
	EP0750497A1 US5470877 A	Resumo: Um método para provocar a regressão do carcinoma é revelado. Uma quantidade efetiva do éter metílico de ácido perílico é administrada. O uso de éster de ácido perílico e um composto farmacêutico. envolvendo ácido perílico, ésteres também são divulgados. Em termos gerais, a presente invenção refere-se à utilização de monoterpenos oxigenados para inibir a formação de carcinoma, causar regressão do carcinoma e reduzir os níveis de colesterol. Os compostos preferidos para estes propósitos são o álcool perílico e o éster metílico do ácido perílico [texto conforme publ. EUA].	
2001	BR 200107262	Título: Monoterpeno como agente quimiopreventivo para a regressão de tumores de células do sistema nervoso de mamífero, uso de monoterpeno para causar regressão e inibição de tumores de células do sistema nervoso e método para administração de álcool monoterpeno perílico	C.P. da Fonseca, T. F. Q. dos Santos, M.G.C. Carvalho, G.A. Brown [INVENTORES]
	US 20040087651 A1	Resumo: A presente invenção refere-se a uma composição baseada em monoterpenos com efeitos quimiopreventivos e quimioterapêuticos em neoplasias malignas de seres humanos e animais contendo de 0,03% a 30% de monoterpenos e 99,97% de solventes. Outro objectivo da presente invenção é uma aplicação de monoterpenos na inibição do crescimento celular e controle de metástases de tumores primários, quando aplicados <i>in vitro</i> em linhagens celulares C6 e U 87 e A172 gliomas <i>in vivo</i> . Outro objectivo adicional da presente invenção refere-se a métodos específicos para a aplicação da composição com efeitos quimiopreventivos e quimioterapêuticos em seres humanos e animais que apresentam neoplasias malignas por inalação e tratamento de nebulização, oral e intratumoral, seguidas ou não por radioterapia com diluições de 0,03% a 30% do monoterpeno perílico ou seus metabólitos derivados diluídos nos solventes especificados pelas técnicas usuais.	
2002	WO2002066662 A8	Título: Processo de preparação do álcool perílico	W.A. Duetz, C. Jourdat, B. Witholt [AVENTIS ANIMAL NUTRITION SA; ET ZURICH]
	EP1236802A1, EP1364039A1, US20040077063, WO2002066662A1	Resumo: A invenção proporciona um processo para a preparação de um análogo de terpeno hidroximetilado, por exemplo (+) ou (-) álcool perílico, num processo que compreende o contacto de um análogo de terpeno com um grupo metilo terminal, por exemplo D- ou L-limoneno, com uma célula microbiana, que tem a capacidade de expressar uma monooxigenase capaz de efetuar a hidroxilação terminal de um n-alceno.	

Fonte: extraído do documento interno provido pela GESTEC/FIOCRUZ à coordenação do projeto ‘perilato’ em 2014.

¹Organização cronológica crescente em relação ao pedido prioritário, mencionando-se no mesmo quadro as aplicações posteriores, quando encontradas no *Google Patents*. ²Patente solicitada no Brasil (até 2014, nenhum pedido foi identificado como aplicado ou concedida no Brasil).

ANO ¹	Nº DA PUBLICAÇÃO	RESUMO	INVENTORES [DETENTOR]
2006	WO200628969 A1	Título: Tratamento do câncer de pâncreas usando inibidores de Na + / K + ATPase	M. Khodadoust, A. Sharma [BIONAUT PHARMACEUTICALS, INC]
	EP1796688A1, EP1796688B1, US20060135442	Resumo: O reagente, formulação farmacêutica, kit e métodos da invenção proporcionam uma nova abordagem para o tratamento de cânceres pancreáticos. A invenção proporciona o uso de inibidores de Na + / K + -ATPase, tais como glicósidos cardíacos (por exemplo, ouabaína e proscillaridina, etc.), sozinhos ou em combinação com outros agentes terapêuticos padrão (quimioterapia ou radioterapia, etc.) para tratamento de câncer pancreático.	
2007	US20070213543 A1 (+ 9 patentes derivadas nos EUA)	Título: Prevenção do câncer de ovário pela administração de agentes que induzem respostas biológicas	G.C. Rodriguez [NEW LIFE PHARMACEUTICALS]
		Resumo: A presente invenção refere-se a composições e métodos para prevenir o desenvolvimento de câncer de ovário epitelial, administrando compostos em uma quantidade capaz de regular a expressão de TGF-p no epitélio do ovário e/ou capaz de alterar otimamente a expressão de outros biomarcadores de substituição identificados pela tecnologia de microarray. Os regimes HRT e OCP compreendendo tais composições e métodos são revelados.	
2010	WO201091198 WO 2010091198 A1	Título: Composições terapêuticas compreendendo monoterpenos	T.C. Chen, C.O. da Fonseca, T.Q. dos Santos, G. Schwartsmann [UNIVERSITY OF SOUTHERN CALIFORNIA]
		Resumo: Esta invenção compreende compostos inalatórios, intranasais ou oculares para o transporte de um agente terapêutico. Os compostos devem conter um agente terapêutico, isto é, um agente antitumoral e cerca de 0,0001% a 50% em peso de um monoterpeno ou um seu análogo. O monoterpeno é o álcool perfílico (POH) ou um análogo seu. O agente terapêutico é fornecido em quantidade eficaz para tratar câncer, especialmente um tumor primário do sistema nervoso central. Assim, a temozolomida (TMZ) em combinação com 0,01% de POH tem pelo menos um efeito aditivo nos ensaios de citotoxicidade MTT. Este efeito foi menos pronunciado para as células de glioma U87 e para células resistentes a A172-TMZ. O efeito combinado foi ainda mais pronunciado quando o POH foi combinado com dimetilcelecoxib (DMC).	
2011	WO2011109635 A1	Título: Composição farmacêutica compreendendo monoterpenos	T. Chen, D. Levin, S. Puppali [NEONC TECHNOLOGIES]
		Resumo: A presente invenção proporciona um processo para purificar um monoterpeno ou sesquiterpeno com uma pureza superior a cerca de 98,5% (peso/peso). O processo compreende os passos de derivatização do monoterpeno (ou sesquiterpeno) para produzir um derivado de monoterpeno (ou sesquiterpeno), separação do monoterpeno (ou sesquiterpeno) derivado, e a liberação do monoterpeno (ou sesquiterpeno) do derivado. O âmbito da presente invenção também abrange uma composição farmacêutica compreendendo um monoterpeno (ou sesquiterpeno) com uma pureza superior a cerca de 98,5% (peso/peso). O monoterpeno purificado pode ser usado para tratar uma doença como o câncer. O presente monoterpeno (ou sesquiterpeno) pode ser administrado sozinho, ou ser co-administrado com radiação ou outros agentes quimioterapêuticos.	

Fonte: extraído do documento interno provido pela GESTEC/FIOCRUZ à coordenação do projeto 'perilato' em 2014..

¹Organização cronológica crescente em relação ao pedido prioritário, mencionando-se no mesmo quadro as aplicações posteriores, quando encontradas no *Google Patents*. ²Patente solicitada no Brasil (até 2014, nenhum pedido foi identificado como aplicado ou concedida no Brasil).

ANO ¹	Nº DA PUBLICAÇÃO	RESUMO	INVENTORES [DETENTOR]
2012	WO201227693	Título: Composições farmacêuticas compreendendo derivados de POH	T. Chen, D. Levin, S. Puppali [NEONC TECHNOLOGIES]
	20130210877 A1 CN107427588A EP3244930A1 US20160038600 WO 2016115147 A1 (resumo modificado)	Resumo: A presente invenção proporciona um derivado de monoterpeno ou sesquiterpeno, como um derivado do álcool perfílico. Por exemplo, este derivado pode ser um carbamato. O derivado do álcool perfílico pode ser conjugado com um agente terapêutico tal como um agente quimioterapêutico. A presente invenção também proporciona um método para tratar uma doença tal como cancer, compreendendo o passo de entregar a um paciente uma quantidade terapêuticamente eficaz de um derivado de monoterpeno (ou sesquiterpeno). A via de administração pode variar, incluindo inalação, intranasal, oral, transdérmica, i.v., s.c. ou eu. injeção.	
2013	WO 2013119304 A2	Título: Composições farmacêuticas compreendendo álcool perfílico enriquecido com deutério, álcool iso-perifílico e seus derivados	T. Chen, D. Levin, S. Puppali [NEON CLOCK TECHNOLOGIES INK], [NEONC TECHNOLOGIES]
	US 20160039731 A1 (título e resumo ligeiramente modificados) ² doc 112014012180	Resumo: A presente invenção proporciona um monoterpeno ou sesquiterpeno enriquecido com deutério, tal como álcool perfílico, ou um isômero ou análogo enriquecido em deutério em monoterpenos ou sesquiterpenos, tais como álcool isoperifílico. A presente invenção também proporciona um derivado enriquecido com deutério de um monoterpeno ou sesquiterpeno, como o carbamato do álcool perfílico, ou derivado enriquecido com deutério de um isômero ou análogo de um monoterpeno ou sesquiterpeno, tal como um carbamato do álcool isoperifílico. O derivado enriquecido com deutério pode ser álcool perfílico ou isoperifílico conjugado com um agente quimioterapêutico. A presente invenção também proporciona um método para tratar uma doença tal como cancer, compreendendo o passo de entregar a um paciente uma quantidade terapêuticamente eficaz de um composto com deutério.	

Fonte: extraído do documento interno provido pela GESTEC/FIOCRUZ à coordenação do projeto 'perilato' em 2014.

¹Organização cronológica crescente em relação ao pedido prioritário, mencionando-se no mesmo quadro as aplicações posteriores, quando encontradas no *Google Patents*. ²Patente solicitada no Brasil (até 2014, nenhum pedido foi identificado como aplicado ou concedida no Brasil).

ANEXO 4 – Sumário dos dados de ensaios clínicos com POH obtidos pelo *Integrity*.

NOME DO ESTUDO	GRUPO TERAPÊUTICO	CONDIÇÃO	DESENHO	TRATAMENTO	POPULAÇÃO/ NO.	CONCLUSÕES/ OBJETIVOS	REFERÊNCIAS
Álcool perfílico para câncer	Câncer	Câncer	Determinação de dose; Aberto Randomizado	POH, 1200-2000 mg p.o. q.i.d. x 14 dias 1x/28 dias x 49 ciclos	Pacientes com idade entre 32-82 e com câncer avançado (n = 20)	A administração intermitente de POH não mostrou nenhuma vantagem sobre a administração contínua quanto a eficácia da atividade antitumoral e a tolerabilidade. A dose de 1600-2100 mg/m ² foi bem tolerada e 1600 mg/m ² foi a dose recomendada para pacientes com câncer avançado.	<i>Cancer Chemother Pharmacol</i> 2004, 54(4): 368
Álcool perfílico para câncer	Câncer	Câncer	Aberto	POH, 1200 ou 1600 mg/m ² p.o. q.i.d. x 2 semanas	Pacientes com câncer (n = 10)	Mais dados são necessários para definir a dose máxima tolerada de POH	<i>Proc Am Assoc Cancer Res (AACR)</i> 1998, 39: Abst 2205
Álcool perfílico para câncer	Câncer	Câncer	Determinação de dose; Aberto	POH, 1350 mg q.i.d. p.o. x 28 dias (n=3); POH, 2025 mg q.i.d. p.o. x 28 dias (n=4); POH, 2700 mg q.i.d. p.o. x 28 dias (n=3); POH, 3375 mg q.i.d. p.o. x 28 dias (n=3); POH, 4050 mg q.i.d. p.o. x 28 dias (n=6)	Pacientes com câncer sólido refratário (n = 19)	POH foi bem tolerado em pacientes com tumores sólidos	<i>Cancer Chemother Pharmacol</i> 2003, 52(5): 361
Álcool perfílico para câncer no ovário	Câncer	Câncer	Aberto Multicêntrico	POH, 1200 mg/m ² /dose p.o. q.i.d. 28 dias	Pacientes com câncer ovariano avançado (n = 20)	POH não mostrou sinais de estender o tempo até progressão da doença em pacientes com carcinoma ovariano avançado.	<i>Gynecol Oncol</i> 2002, 85(3): 464
Álcool perfílico para câncer de próstata	Câncer	Câncer	Aberto Multicêntrico	POH, 1200 mg/m ² q.i.d. p.o.	Pacientes com câncer de próstata metastático independente de androgênio que teve progressão da doença depois de quimioterapia ou outra terapia experimental (n = 15)	Na dose utilizada, POH não foi bem tolerada ou efetiva em pacientes com câncer prostático independente de androgênio metastático.	<i>Invest New Drugs</i> 2003, 21(3): 367

Fonte: Base *Integrity*. Tradução própria (do inglês)

Álcool perfílico para câncer no cérebro	Câncer	Câncer, SNC (Astrocytoma anaplástico)	Aberto	POH, 55 mg i.n. q.i.d. x 6 meses (n=68)	Paciente com glioblastoma maligno [n=52], astrocitoma anaplástico [n=10] e oligodendroglioma anaplástico [n=6] que falharam no tratamento padrão (n = 68)	Um estudo de fase I/II mostraram que administração intranasal de POH foi segura e resultou em regressão do tamanho do tumor em alguns pacientes com câncer no cérebro.	<i>Jt Meet World Fed Neuro-Oncology Meet Asian Soc Neuro-Oncology (ASNO) (May 11-14, Yokohama) 2009, Abst P210</i>
Álcool perfílico para glioblastoma	Câncer	Câncer, SNC (glioblastoma)	Aberto	POH, 440 mg i.n. q.i.d.	Pacientes adultos com idade entre 39-85 anos com glioblastoma recorrente (n = 89)	O estudo demonstrou que a administração intranasal de POH foi efetiva ao aumentar a sobrevida global de pacientes com glioblastoma quando comparada ao controle histórico não tratado.	<i>J Cancer Res Clin Oncol 2011, 137(2): 287</i>
Álcool perfílico para glioblastoma	Câncer	Câncer, SNC (glioblastoma)	Aberto	POH, 110 mg intranasal q.i.d.	Pacientes adultos com glioblastoma recorrente (n = 89)	O estudo demonstrou que a administração intranasal de POH foi efetiva ao aumentar a sobrevida global de pacientes com glioblastoma quando comparada ao controle histórico.	46th Annu Meet Am Soc Clin Oncol (ASCO) (June 4-8, Chicago) 2010, Abst 2098
Álcool perfílico para glioblastoma	Câncer	Câncer, SNC (glioblastoma)	Aberto	Controle (n=52); POH, 440 mg/dia intranasal. (n=89)	Pacientes adultos com glioblastoma recorrente [n=89] e controle histórico [n=52] (n = 141)	POH intranasal foi efetivo melhorando a sobrevida global de pacientes com glioblastoma.	<i>Neuro-Oncol 2010, 100(2, Suppl.): Abst 2098</i>
Álcool perfílico para glioblastoma	Câncer	Câncer, SNC (glioma)	Aberto	Controle (n=196); POH [0.3% v/v], 220 mg intranasal q.i.d. --> [up-titrated] Id. 440 mg i.n. q.i.d. (n=83)	Pacientes brasileiros com idade entre 18-82 anos e com glioma recorrente [n=83] e sujeitos com idade entre 25-90 anos sem câncer [n=196] que tenham no genótipo o polimorfismo EGF+61A>G (n = 279)	A phase I/II study demonstrated that the presence of EGF+61A>G polymorphism was associated with increased glioma risk and increased circulating epidermal growth factor (EGF) levels in patients with glioma who received treatment with Álcool perfílico. However, Álcool perfílico was associated with better response in patients with lower EGF levels	<i>J Cancer Res Clin Oncol 2012, 138(8): 1347</i>
Álcool perfílico para glioblastoma	Câncer	Câncer, SNC (glioma)	Aberto	POH, 266.8 mg/dia i.n. --> [up-titrated] Id. 533.6 mg/dia intranasal	Pacientes com idades entre 28-69 anos e com glioma maligno recorrente (n = 198)	O estudo de fase I/II demonstrou que o tratamento com POH foi seguro e efetivo em pacientes com glioma.	<i>Anticancer Res 2013, 33(12): 5625</i>

Fonte: Base *Integrity*. Tradução própria (do inglês)

Álcool perfílico para câncer no cérebro	Câncer	Câncer, SNC (oligodendroglioma)	Aberto	POH, 55 mg i.n. q.i.d. x 6 meses (n=68)	Pacientes com glioblastoma [n=52], astrocitoma anaplástico [n=10] e oligodendroglioma anaplástico [n=6] que tenham falhado no tratamento padrão (n = 68)	O estudo de fase I/II demonstrou que a administração intranasal do POH foi segura e resultou em regressão do tamanho de tumor em alguns pacientes com câncer no cérebro.	Jt Meet World Fed Neuro-Oncology Meet Asian Soc Neuro-Oncology (ASNO) (May 11-14, Yokohama) 2009, Abst P210
Álcool perfílico para câncer de mama	Câncer	Câncer de mama metastático	Aberto Multicêntrico	POH (cápsulas de gelatinas moles) 1200-1500 mg/m ² p.o. q.i.d. x 28 dias x 2 ciclos	Mulheres com idade entre 40-90 anos com câncer de mama metastático (n = 14)	O estudo de fase II sugeriu que o POH foi pobremente tolerado e não apresentou benefícios terapêuticos em pacientes com câncer de mama refratário.	<i>Cancer Chemother Pharmacol</i> 2008, 62(1): 149
Álcool perfílico para câncer de ovário	Câncer	Câncer de ovário	Aberto Multicêntrico	POH, 1200 mg/m ² /dose p.o. q.i.d. 28 dias	Pacientes com câncer ovariano avançado (n = 20)	POH não mostrou sinais de estender o tempo até progressão da doença em pacientes com carcinoma ovariano avançado.	<i>Gynecol Oncol</i> 2002, 85(3): 464
Álcool perfílico para câncer de próstata	Câncer	Câncer de próstata	Aberto Multicêntrico	POH, 1200 mg/m ² q.i.d. p.o.	Pacientes com câncer de próstata metastático independente de androgênio que teve progressão da doença depois de quimioterapia ou outra terapia experimental (n = 15)	Na dose utilizada, POH não foi bem tolerado ou efetivo em pacientes com câncer de próstata independente de androgênio metastático.	<i>Invest New Drugs</i> 2003, 21(3): 367

ANEXO 5 – Patentes solicitadas pela equipe da Fiocruz-UFRJ com o processo de obtenção e atividade anticâncer do perillato de sódio*

Pedido Prioritário (data)	Título	Inventores	País	Data de depósito	Nº Pedido / Patente (correspondente)	Status	
PI BR 10 2014 020443 1 (20/08/2014)	Composto, processo para preparação de um composto, composição farmacêutica, uso de um composto e método de tratamento de câncer [Method for preparing a perillic acid derivative, a pharmaceutical composition, and use thereof for treatment of cancer]	A.C. Siani ¹ M.A. Ferrara ¹ P.S.B. de Lacerda ¹ R.E.S. López ¹ A.L.F. Sampaio ¹ M.R.R. Tappin ¹ E.P.S. Bon ² ¹ Farmanginhos/FIOCRUZ ² Universidade Federal do Rio de Janeiro.	Brasil	20/08/2014	PI BR 10 2014 020443 1	Requerido (Aguarda INPI)	20/08/2014
			PCT	20/08/2015	WO 2016/026014 A1 PCT/BR2015/000127	Requerido	20/08/2015
			Estados Unidos	20/08/2015	US2017/0260121	Pedido Publicado	14/09/2017
			China	20/08/2015	CN 106660927 A	Pedido Publicado	10/05/2017
			Europa	20/08/2015	EP3184503A1	Pedido Publicado	28/06/2017
<p>Summary: The present invention provides a perillic acid deriv. I with anticancer activity, in the form of a salt in which the counter-ion M+ comprises alkali or alkaline earth metals, such as Na+ (sodium), K+ (potassium), Ca+2/2 (calcium), etc. The invention further relates to a method for producing the compd., a pharmaceutical compound containing it, the use of the compd. and a method for cancer treatment. Thus, sodium perillate (I; M = Na) was prepd. from limonene (II) via allylic oxidation with <i>Yarrowia lipolytica</i> to give perillic acid (I; R = H) which was treated with NaOMe in MeOH.</p>							

Fonte: Elaboração própria

*Informações atualizadas em 25/01/2018 (conforme o Núcleo de Inovação Tecnológica de Farmanguinhos/Fiocruz).

INPI: Instituto Nacional de Propriedade Industrial.