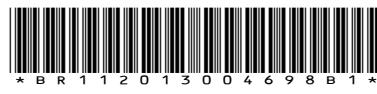




República Federativa do Brasil  
Ministério da Economia  
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) BR 112013004698-8 B1



(22) Data do Depósito: 26/08/2011

(45) Data de Concessão: 22/03/2022

(54) Título: COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS COMPREENDENDO DERIVADOS DE POH

(51) Int.Cl.: C07C 35/18.

(30) Prioridade Unionista: 04/04/2011 US 61/471,402; 27/08/2010 US 61/377,747.

(73) Titular(es): NEONC TECHNOLOGIES INC..

(72) Inventor(es): THOMAS CHEN; DANIEL LEVIN; SATISH PUPALLI.

(86) Pedido PCT: PCT US2011049392 de 26/08/2011

(87) Publicação PCT: WO 2012/027693 de 01/03/2012

(85) Data do Início da Fase Nacional: 27/02/2013

(57) Resumo: COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS COMPREENDENDO DERIVADOS DE POH. A presente invenção proporciona um derivado de monoterpeno ou sesquiterpeno, tal como um derivado de álcool perílico. Por exemplo, o derivado de álcool perílico pode ser um carbamento de álcool perílico. O derivado de álcool perílico pode ser álcool perílico conjugado com um agente terapêutico tal como um agente quimioterapêutico. A presente invenção também proporciona um método de tratar uma doença tal como câncer, compreendendo a etapa de enviar a um paciente uma quantidade terapeuticamente eficaz de um derivado de monoterpeno (ou sesquiterpeno). A via de administração pode variar, e pode incluir inalação, intranasal, oral, transdérmica, intravenosa, subcutânea ou injeção intramuscular.

**"COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS COMPREENDENDO DERIVADOS DE POH"**

Referência Cruzada ao Pedido Relacionado

O presente pedido reivindica prioridade em relação aos Pedidos Provisórios US números. 61/377,747 (depositado em 27 de Agosto de 2010) e 61/471,402 (depositado em 4 de Abril de 2011 ).

5 Campo da invenção

Apresente invenção se refere a derivados de POH. A presente invenção adicionalmente se refere a métodos de usar os derivados de POH tal como carbamatos de POH para tratar câncer.

10 Antecedentes da invenção

Gliomas malignos, a forma mais comum dos cânceres do sistema nervoso central (CNS), é atualmente considerado essencialmente incurável. Entre os vários gliomas malignos, astrocitomas anaplásicos (Categoria III) e glioblastoma multiforme (GBM; Categoria IV) tem um prognóstico especialmente pobre em virtude de seu crescimento agressivo e resistência às terapias atualmente disponíveis. O presente padrão de cuidados para os gliomas malignos consiste de cirurgia, radiação de ionização, e quimioterapia. Apesar dos recentes avanços na medicina, nos últimos 50 anos não houve nenhum aprimoramento significante no prognóstico para gliomas malignos. Wen et al. Malignant Gliomas in adults. New England J Med. 359: 492-507, 2008. Stupp et al. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. New England J Med. 352: 987-996, 2005.

A pobre resposta dos tumores, incluindo gliomas malignos, aos vários tipos de agentes quimioterapêuticos com frequência ocorre em virtude da intrínseca resistência ao fármaco. Adicionalmente, resistência adquirida dos tumores que inicialmente respondem bem e efeitos colaterais indesejados são outros problemas que com frequência frustram o tratamento a longo prazo usando agentes quimioterapêuticos. Assim sendo, vários análogos de agentes quimioterapêuticos foram preparados em um esforço de superar os referidos problemas. Os análogos incluem novos agentes terapêuticos que são moléculas híbridas de pelo menos dois agentes terapêuticos existentes. Por exemplo, cisplatina foi conjugada com complexos Pt-(II) com cofármacos citotóxicos, ou conjugado com componentes de circuito bioativos tais como porfirinas, ácidos biliares, hormônios, ou moduladores que aceleram o transporte transmembrana ou o acúmulo do fármaco dentro da célula. Complexos de (6-Aminometilnicotinato) dichloridoplacina (II) esterificados com álcoois de terpeno foram testados em um painel de linhagens de célula tumoral humana. As frações terpenilanas referidas complexos pareceram preencher a função de circuito de transmembrana e aumentou o coeficiente e a extensão da captação dos referidos conjugados em várias linhagens de células tumorais. Schobert et al. Monoterpenes as Drug Shuttles: Citotoxic (6-minometilnicotinate) dichloridoplacina(II) Complexes with Potential To Overcome Cisplatin Resistance. J. Med.

Chem. 2007, 50, 1288-1293.

Álcool perílico (POH), um monoterpeno de ocorrência natural, foi sugerido ser um agente eficaz contra uma variedade de cânceres, incluindo câncer do SNC, câncer de mama, câncer pancreático, câncer de pulmão, melanomas e câncer de cólon. Gould, M. Cancer chemo prevention and therapy by monoterpenes. Environ Health Perspect. 1997 June; 105 (Suppl 4): 977-979. Moléculas híbridas contendo não só álcool perílico, mas também retinóides foram preparados para aumentar atividade de indução de apoptose. Das et al. Design and synthesis of potential new apoptosis agents: hybrid compounds containing perillyl álcooland new constrained retinoids. Tetrahedron Letters 2010, 51, 1462-1466.

Há ainda uma necessidade de se preparar derivados de álcool perílico incluindo álcool perílico conjugado com outro agente terapêutico, e usar o referido material no tratamento de cânceres tais como gliomas malignos, assim como outras desordens cerebrais tais como doença de Parkinson e Alzheimer. Derivados de álcool perílico podem ser administrados isoladamente ou em combinação com outros métodos de tratamento incluindo radiação, quimioterapia padrão, e cirurgia. A administração pode também ser através de várias vias incluindo intranasal, oral, oral-traqueal para envio pulmonar, e transdérmica.

#### Sumário da invenção

A presente invenção proporciona uma composição farmacêutica compreendendo um carbamato de álcool perílico. O carbamato de álcool perílico pode ser álcool perílico conjugado com um agente terapêutico, tal como um agente quimioterapêutico. Os agentes quimioterapêuticos que podem ser usados na presente invenção incluem um agente de alquilização de DNA, um inibidor de topoisomerase, um agente de indução de tensão de retículo endoplasmático, um composto de platina, um antimetabólito, um inibidor de enzima, e um antagonista receptor. Em determinadas modalidades, os agentes terapêuticos são celcoxib de dimetila (DMC), temozolomida (TMZ) ou rolipram. Os carbamatos de álcool perílico podem ser 4-(Bis-N,N'-4-isopropenil ciclohex-1-enilmeloxi carbonil [5-(2,5-dimetil fenil)-3-trifluorometil pirazol-1-il] benzenosulfonamida, éster 4-isopropenil ciclohex-1-enilmelílico de ácido 4-(3-ciclopentiloxi-4-metoxi fenil)-2-oxo-pirrolidina-1-carboxílico, e éster 4-isopropenil ciclohex-1-enilmelílico de ácido 3-metil 4-oxo-3,4-dihidroimidazo[5,1-d][1,2,3,5]tetrazina-8-carbonil)-carbâmico.

As composições farmacêuticas da presente invenção podem ser administradas antes, durante ou após radiação. As composições farmacêuticas podem ser administradas antes, durante ou após a administração de um agente quimioterapêutico. As vias de administração das composições farmacêuticas incluem a administração inalação, intranasal, oral, intravenosa, subcutânea ou intramuscular.

A presente invenção adicionalmente proporciona um método para tratar uma doença em um mamífero, compreendendo a etapa de enviar ao mamífero uma quantidade tera-

peuticamente eficaz de um carbamato de álcool perílico. O método pode adicionalmente compreender a etapa de tratar o mamífero com radiação, e/ou adicionalmente compreender a etapa de enviar ao mamífero um agente quimioterapêutico. As doenças tratadas podem ser câncer, incluindo um tumor do sistema nervoso, tal como a glioblastoma. As vias de administração do carbamato de álcool perílico incluem administração por inalação, intranasal, oral, intravenosa, subcutânea ou intramuscular.

A presente invenção também proporciona um processo para a produção de um carbamato de POH, compreendendo a etapa de reagir um primeiro reagente de cloroformato de perilila com um segundo reagente, que pode ser celcoxib de dimetila (DMC), temozolomida (TMZ) ou rolipram. Quando o segundo reagente é celcoxib de dimetila, a reação pode ser realizada na presença de acetona e um catalisador de carbonato de potássio. Quando o segundo reagente é rolipram, a reação pode ser realizada na presença de tetrahidrofuran e um catalisador de n-butil lítio. O cloroformato de perilila pode também ser preparado ao se reagir álcool perílico com fosgênio.

15        Breve Descrição dos Desenhos

A figura 1 mostraos resultados dos testes de citotoxicidade de MTT demonstrando a eficácia de dimetil celecoxib (DMC) no extermínio de células de glioma humano U87, A 172 e U251.

20        A figura 2 mostraos resultados dos testes de citotoxicidade de MTT demonstrando a eficácia do conjugado de POH-DMCno extermínio de células de glioma humano U87, A172 e U251de acordo coma presente invenção.

A figura 3 mostra os resultados dos testes de citotoxicidade de MTT demonstrando a eficácia de temozolomida (TMZ) no extermínio de células de glioma humano U87, A172 e U251.

25        A figura 4 mostraos resultados dos testes de citotoxicidade de MTT demonstrando a eficácia do conjugado de POH-TMZ no extermínio de células de glioma humano U87, A172 e U251de acordo com a presente invenção.

A figura 5 mostra os resultados dos testes de citotoxicidade de MTT demonstrando a eficácia do conjugado de POH-Rolipram e Rolipram no extermínio de células de glioma 30 humano A172.

A figura 6 mostra os resultados dos testes de citotoxicidade de MTT demonstrando a eficácia do conjugado de POH-Rolipram e Rolipram no extermínio de células de glioma humano U87.

35        A figura 7 mostra os resultados dos testes de citotoxicidade de MTT demonstrando a eficácia do conjugado de POH-Rolipram e Rolipram no extermínio de células de glioma humano U251.

A figura 8 mostra os resultados dos testes de citotoxicidade de MTT demonstrando

a eficácia do conjugado de POH-Rolipram e Rolipram no extermínio de células de glioma humano L229.

A figura 9 mostra a inibição de crescimento tumoral por butiril-POH em modelos de ratos. A figura 9A mostra as imagens de gliomas U-87 subcutâneos em ratos nus tratados com butiril-POH, (S)-álcool perílico purificado tendo uma pureza maior do que 98,5% ("POH purificado"), POH adquirido a partir da Sigma Chemicals ("Sigma"), ou solução salina tampponada a fosfato ("PBS"; controle negativo). A figura 9B mostra crescimento tumoral médio com o tempo (período de tempo total de 60 dias).

A figura 10 mostra os resultados de um teste de formação de Colônia (CFA) demonstrando o efeito de toxicidade de TMZ e TMZ-POH em células U251 (U251 TR) resistentes a TMZ e sensíveis a TMZ (U251).

A figura 11 mostra os resultados de um teste de formação de Colônia (CFA) demonstrando o efeito de toxicidade de POH em células sensíveis a TMZ (U251) e resistentes a TMZ (U251TR) U21.

A figura 12 mostra os resultados dos testes de citotoxicidade de MTT demonstrando a eficácia do conjugado de POH-TMZ no extermínio de células U251, células U251TR, e astrócitos normais.

A figura 13 mostra os resultados dos testes de citotoxicidade de MTT demonstrando a eficácia do conjugado de POH-TMZ no extermínio de astrócitos normais, células endoteliais cerebrais (BEC; confluente e subconfluente), e células tumorais endoteliais cerebrais (TuBEC).

A figura 14 mostra os resultados dos testes de citotoxicidade de MTT demonstrando a eficácia de TMZ e o conjugado de POH-TMZ no extermínio de células tronco de câncer de glioma USC-04.

A figura 15 mostra os resultados dos testes de citotoxicidade de MTT demonstrando a eficácia de POH no extermínio de células tronco de câncer de glioma USC-04.

A figura 16 mostra os resultados dos testes de citotoxicidade de MTT demonstrando a eficácia de TMZ e o conjugado de POH-TMZ no extermínio de células tronco de câncer de glioma USC-02.

A figura 17 mostra os resultados dos testes de citotoxicidade de MTT demonstrando a eficácia de POH no extermínio de células tronco de câncer de glioma USC-02.

A figura 18 mostra um western blot demonstrando que TMZ-POH induz tensão ER (ERS) em células de glioma sensíveis TMZ ("U251 -TMZs") e resistentes ("U251-TMZh") U251.

#### Descrição Detalhada da Invenção

A presente invenção proporciona um derivado de monoterpeno ou sesquiterpeno, tal como um derivado de álcool perílico. A presente invenção também proporciona uma composição farmacêutica compreendendo um derivado de monoterpeno ou sesquiterpeno,

tal como um derivado de álcool perílico. Por exemplo, o derivado de álcool perílico pode ser um carbamato de álcool perílico. O derivado de álcool perílico pode ser álcool perílico conjugado com um agente terapêutico tal como um agente quimioterapêutico. O derivado de monoterpeno (ou sesquiterpeno) pode ser formulado em uma composição farmacêutica, onde o derivado de monoterpeno (ou sesquiterpeno) está presente em quantidades que variam a partir de cerca de 0,01% (peso em peso) a cerca de 100% (peso em peso), a partir de cerca de 0,1% (peso em peso) a cerca de 80% (peso em peso), a partir de cerca de 1% (peso em peso) a cerca de 70% (peso em peso), a partir de cerca de 10% (peso em peso) a cerca de 60% (peso em peso), ou a partir de cerca de 0,1% (peso em peso) a cerca de 20% (peso em peso). As presentes composições podem ser administradas isoladamente, ou podem ser coadministradas juntas com radiação ou outro agente (por exemplo, um agente quimioterapêutico), para tratar uma doença tal como câncer. Tratamentos podem ser sequenciais, com o derivado de monoterpeno (ou sesquiterpeno) sendo administrado antes ou após a administração de outros agentes. Por exemplo, um carbamato de álcool perílico pode ser usado para sensibilizar um paciente com câncer à radiação ou quimioterapia. Alternativamente, agentes podem ser administrados concomitantemente. A via de administração pode variar, e pode incluir, inalação, intranasal, oral, transdérmica, intravenosa, subcutânea ou injeção intramuscular. A presente invenção também proporciona um método de tratar uma doença tal como câncer, compreendendo a etapa de enviar a um paciente uma quantidade terapeuticamente eficaz de um derivado de monoterpeno (ou sesquiterpeno).

As composições da presente invenção podem conter um ou mais tipos de derivados de monoterpeno (ou sesquiterpeno). Monoterpenos incluem terpenos que consistem de duas unidades isopreno. Monoterpenos podem ser lineares (acíclicos) ou conteranéis. Derivados de monoterpenóides são também englobados pela presente invenção. Monoterpenóides podem ser produzidos por modificações bioquímicas tal como oxidação ou rearranjo de monoterpenos. Exemplos de monoterpenos e monoterpenóides incluem álcool perílico (*S*(-)) e (*R*(+)), ocimeno, mirceno, geraniol, citral, citronelol, citronelal, linalool, pineno, terpineol, terpineno, limoneno, terpinenos, felandrenos, terpinoleno, terpineno-4-ol (óleo da árvore do chá), pineno, terpineol, terpineno; os terpenóides tal como p-cimeno que é derivado a partir de terpenos monocíclicos como mentol, timol e carvacrol; monoterpenóides bicíclicos tais como cânfora, borneol e eucaliptol.

Monoterpenos podem ser distinguidos pela estrutura de um esqueleto de carbono e pode ser agrupado em monoterpenos acíclicos (por exemplo, mirceno, (*Z*)- e (*E*)-ocimeno, linalool, geraniol, nerol, citronelol, mircenol, geranal, citral a, neral, citral b, citronelal, etc.), monoterpenos monocíclicos (por exemplo, limoneno, terpineno, felandreno, terpinoleno, mentol, carveol, etc.), monoterpenos bicíclicos (por exemplo, pineno, mirtenol, mirtenal, verbanol, verbanon, pinocarveol, careno, sabinano, canfeno, tujeno, etc.) e tricíclico monoter-

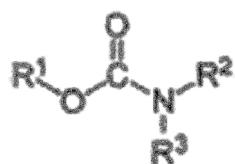
penos (por exemplo, triciclo). Vide Encyclopedia of Chemical Technology, Fourth Edition, Volume 23, page 834-835.

Os sesquiterpenos da presente invenção incluem terpenos que consistem de três unidades isopreno. Os sesquiterpenos podem ser lineares (acíclicos) ou conter anéis. Derivados de sesquiterpenóides são também englobados pela presente invenção. Sesquiterpenóides podem ser produzidos por modificações bioquímicas tais como oxidação ou rearranjo de sesquiterpenos. Exemplos de sesquiterpenos incluem farnesol, farnesal, ácido farnesílico e nerolidol.

Os derivados de monoterpeno (ou sesquiterpeno) incluem, mas não são limitados a, carbamatos, ésteres, éteres, álcoois e aldeídos do monoterpeno (ou sesquiterpeno).

Álcoois de monoterpeno (ou sesquiterpeno) podem ser derivados em carbamatos, ésteres, éteres, aldeídos ou ácidos.

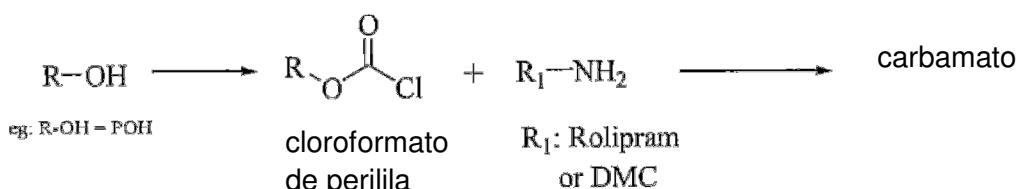
Carbamato se refere a uma classe de compostos químicos que compartilham o mesmo grupo funcional



com base em um grupo carbonila flanqueado por um oxigênio e um nitrogênio. R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> e R<sup>3</sup> podem ser um grupo tal como alquila, arila, etc., que pode ser substituído. Os grupos R no nitrogênio e no oxigênio podem formar um anel. R'-OH pode ser um monoterpeno, por exemplo, POH. A fração R<sup>2</sup>-N-R<sup>3</sup> pode ser um agente terapêutico.

Os carbamatos podem ser sintetizados ao se reagir isocianato e álcool, ou ao se reagir cloroformato com amina. Carbamatos podem ser sintetizados por reações que fazem uso de fosgênio ou equivalentes de fosgênio. Por exemplo, carbamatos podem ser sintetizados ao se reagir gás fosgênio, difosgênio ou um precursor de fosgênio sólido tal como trifosgênio com duas aminas ou uma amina e um álcool. Carbamatos (também conhecidos como uretanos) podem também ser produzidos a partir da reação de um intermediário de uréia com um álcool. Carbonato de dimetila e carbonato de difenila são também usados para a produção de carbamatos. Alternativamente, os carbamatos podem ser sintetizados através da reação de álcool e/ou precursores de amina com um carbonato de diarila substituído com éster, tal como bismetilsalicilcarbonato (BMSC). Publicação de Patente US No. 20100113819.

Carbamatos podem ser sintetizados pela abordagem a seguir:

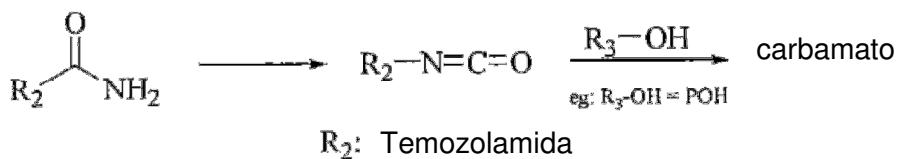


Solventes de reação adequados incluem, mas não são limitados a, tetrahidrofurano, diclorometano, dicloroetano, acetona, e éter diisopropílico. A reação pode ser realizada a uma temperatura que varia a partir de cerca de -70 °C a cerca de 80 °C, ou a partir de cerca de -65 °C a cerca de 50 °C. A proporção molar de cloroformato de perilila para o substrato R -

5 NH<sub>2</sub> pode variar a partir de cerca de 1:1 a cerca de 2:1, a partir de cerca de 1:1 a cerca de 1,5:1, a partir de cerca de 2:1 a cerca de 1:1, ou a partir de cerca de 1,05:1 a cerca de 1:1:1.

Bases adequadas incluem, mas não são limitados a, bases orgânicas, tal como trietilamina, carbonato de potássio, N,N'-diisopropiletilamina, butil lítio, e potássio-t-butóxido.

Alternativamente, carbamatos podem ser sintetizados pela abordagem a seguir:



10 Solventes de reação adequados incluem, mas não são limitados a, diclorometano, dicloroetano, tolueno, éter diisopropílico, e tetrahidrofurano. A reação pode ser realizada a uma temperatura que varia a partir de cerca de 25 °C a cerca de 110 °C, ou a partir de cerca de 30 °C a cerca de 80 °C, ou cerca de 50 °C. A proporção molar de álcool perílico para o substrato R-N=C=O pode variar a partir de cerca de 1:1 a cerca de 2:1, a partir de cerca de 1:1 a cerca de 1,5:1, a partir de cerca de 2:1 a cerca de 1:1, ou a partir de cerca de 1,05:1 a cerca de 1:1:1.

15 Ésteres do álcoois de monoterpeno (ou sesquiterpeno) da presente invenção podem ser derivados a partir de um ácido inorgânico ou um ácido orgânico. Ácidos inorgânicos incluem, mas não são limitados a, ácido fosfórico, ácido sulfúrico, e ácido nítrico. Ácidos orgânicos incluem, mas não são limitados a, ácido carboxílico tal como ácido benzóico, ácido graxo, ácido acético e ácido propiônico, e qualquer agente terapêutico que porte pelo menos um grupo funcional de ácido carboxílico. Exemplos de ésteres de álcoois de monoterpeno (ou sesquiterpeno) incluem, mas não são limitados a, ésteres de ácido carboxílico (tal como ésteres de benzoato, ésteres de ácido graxo (por exemplo, éster palmitato, éster linoleato, éster estearato, éster butirila e éster oleato), acetatos, propionatos (ou propanoatos), e formatos), fosfatos, sulfatos, e carbamatos (por exemplo, N,N-dimetilaminocarbonil).

20 Wikipedia - Éster. Recuperado de URL: <http://en.wikipedia.org/wiki/Éster>.

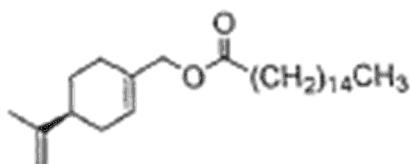
25 Um exemplo específico de um monoterpeno que pode ser usado na presente invenção é álcool perílico (comumente abreviado como POH). Os derivados de álcool perílico incluem, carbamatos de álcool perílico, ésteres de álcool perílico, aldeídos perílicos, ácido diidroperílico, ácido perílico, derivados de aldeído perílico, ésteres de ácido diidroperílico e ésteres de ácido perílico. Os derivados de álcool perílico podem também incluir os seus derivados de adição oxidativo e nucleofílico/eletrofílico. Publicação de Patente US No.

20090031455. Patentes US Nos.6, 133,324 e 3,957,856. Muitos exemplos de derivados de álcool perílico são reportados na literatura química (vide apêndice A: CAS Scifinder search output file, recuperado em 25 de Janeiro de 2010).

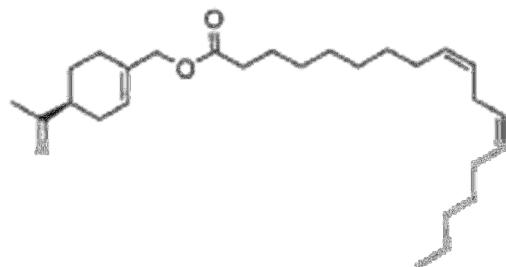
Em determinadas modalidades, um carbamato de POH é sintetizado por um processo compreendendo a etapa de reagir um primeiro reagente de cloroformato de perilila com um segundo reagente tal como celcoxib de dimetila (DMC), temozolomida (TMZ) e rolapram. A reação pode ser realizada na presença de tetrahidrofurano e uma base tal como n-butil lítio. Cloroformato de perilila pode ser produzido ao se reagir POH com fosgênio. Por exemplo, POH conjugado com temozolomida através de uma ligação carbamato pode ser sintetizado ao se reagir temozolomida com cloreto de oxalila seguido por reação com álcool perílico. A reação pode ser realizada na presença de 1,2-dicloroetano.

Carbamato POH englobados pela presente invenção incluem, mas não são limitados a, 4-(bis-N,N'-4-isopropenil ciclohex-1-enilmethoxy carbonil [5-(2,5-dimetil fenil)-3-trifluorometil pirazol-1-il] benzenosulfonamida, éster 4-isopropenil ciclohex-1-enilmétílico de ácido 4-(3-ciclopentiloxi-4-metoxi fenil)-2-oxo-pirrolidina-1-carboxílico, e éster de 4-isopropenil ciclohex-1-enilmethyl de ácido (3-metil 4-oxo-3,4-diidroimidazo[5,1-d] [1,2,3,5]tetrazina-8-carbonil) carbâmico. Os detalhes das reações químicas que geraram os referidos compostos são descritos nos Exemplos abaixo.

Em determinadas modalidades, derivados de álcool perílico podem ser ésteres de álcool perílico de ácido graxo, tal como éster palmitoil de POH e éster linoleoil de POH, as estruturas químicas dos quais são mostrados abaixo.



Éster 4-isopropenil-ciclohex-1-enilmethyl de ácido hexadecanóico(Éster palmitoil de POH)



Éster 4-isopropenil-ciclohex-1-enilmethyl de ácido octadeca-9,12-dienóico(Éster linoleoil de POH)

O derivado de monoterpeno (ou sesquiterpeno) pode ser um monoterpeno (ou sesquiterpeno) conjugado com um agente terapêutico. Um conjugado de monoterpeno (ou sesquiterpeno) englobado pela presente invenção é uma molécula tendo um monoterpeno (ou-

sesquiterpeno) covalentemente ligado via um grupo de ligação química a um agente terapêutico. A proporção molar do monoterpeno (ou sesquiterpeno) para o agente terapêutico no conjugado de monoterpeno (ou sesquiterpeno) pode ser 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 2:1, 3:1, 4:1, ou qualquer outra proporção molar adequada. O monoterpeno (ou sesquiterpeno) e o agente terapêutico podem ser covalentemente ligados através de carbamato, éster, ligações éter, ou quaisquer outros grupos funcionais químicos adequados. Quando o monoterpeno (ou sesquiterpeno) e o agente terapêutico são conjugados através de uma ligação carbamato, o agente terapêutico pode ser qualquer agente portando pelo menos um grupo funcional de ácido carboxílico, ou qualquer agente portando pelo menos um grupo amina funcional. Em 10 um exemplo específico, um conjugado de álcool perílico é álcool perílico covalentemente ligado via um grupo de ligação química a um agente quimioterapêutico.

De acordo com a presente invenção, os agentes terapêuticos que podem ser conjugados com monoterpeno (ou sesquiterpeno) incluem, mas não são limitados a, agentes quimioterapêuticos, agente terapêuticos para tratamento de desordens do SNC (incluindo, 15 sem limitação, desordens neurológicas degenerativas primárias tal como Alzheimer's, Parkinson's, esclerose múltipla, Desordem de Hiperatividade e Déficit de Atenção ou ADHD, desordens psicológicas, psicose e depressão), agentes imunoterapêuticos, inibidores de angiogênese, e agentes anti-hipertensivos. Agentes anti câncer que podem ser conjugados com monoterpeno ou sesquiterpeno podem ter um ou mais dos efeitos a seguir nas células 20 de câncer ou no indivíduo: morte celular; reduzida proliferação celular; reduzido números de células; inibição de crescimento celular; apoptose; necrose; catástrofe mitótica; interrupção do ciclo celular; redução do tamanho celular; reduzida divisão celular; reduzida sobrevivência celular; reduzido metabolismo celular; marcadores de dano celular ou citotoxicidade; indicadores indireto de dano celular ou citotoxicidade tal como retração do tumor; sobrevivência 25 aprimorada de um indivíduo; ou desaparecimento dos marcadores associados com proliferação celular indesejável, não desejado, ou aberrante. Publicação de Patente US No. 20080275057.

Também englobados pela presente invenção estão as misturas e/ou coformulações de um monoterpeno (ou sesquiterpeno) e pelo menos um agente terapêutico.

30 Agentes quimioterapêuticos incluem, mas não são limitados a, agentes de alquilação de DNA, inibidores de topo isomerase, agentes de indução de tensão de retículo endoplasmático, um composto de platina, um antimetabólico, vincalcalóides, taxanos, epotilonas, inibidor de enzimas, receptores antagonistas, inibidores de tirosina quinase, radio sensibilizantes de boro (isto é, velcade), e terapias de combinação quimioterapêuticas.

35 Exemplos não limitantes de agentes de alquilação de DNA são mostradas de nitrogênio, tal como Ciclofosfamida (Ifosfamida, Trofosfamida), Clorambucil (Melfalan, Prednimustina), Bendamustina, Uramustina e Estramustina; nitrosoureas, tais como Carmusti-

na(BCNU), Lomustina (Semustina), Fotemustina, Nimustina, Ranimustina e Streptozocin; sulfonatos de alquila, tais como Busulfan (Manosulfan, Treosulfan); Aziridinas, tais como Carboquona, Triaziquona, Trietilenemelamina; Hidrazinas (Procarbazina); Triazenos tal como Dacarbazina e Temozolomida (TMZ); Altretamina e Mitobronitol.

5 Exemplos não limitantes de inibidores de Topo isomerase I incluem derivados de campotecina incluindo SN-38, APC, NPC, campotecina, topotecan, mesilato de exatecan, 9-nitrocamptotecina, 9-aminocamptotecina, Iurtotecan, rubitecan, silatecan, gimatecan, diflomotecan, extatecan, BN-80927, DX-8951f, e MAG-CPT como descrito em Pommier Y. (2006) *Nat. Rev. Cancer* 6(10): 789-802 e Publicação de Patente US No. 200510250854;

10 10 alcalóides de Protoberberina e derivados dos mesmos incluindo berberrubina e coralina como descrito em Li et al. (2000) *Biochemistry* 39(24):7107-7116 e Gatto et al. (1996) *Cancer Res.* 15(12): 2795-2800; Derivados de fenantrolina incluindo Benzo[i]fenantridina, Nitidina, e fagaronina como descrito em Makhey et al. (2003) *Bioorg. Med. Chem.* 11 (8): 1809-1820; Terbenzimidazola e derivados dos mesmos como descrito em Xu (1998) *Biochemistry* 37(10): 3558-3566; e derivados de Antraciclina incluindo Doxorubicina, Daunorubicina, e Mitoxantrona como descrito em Foglesong et al. (1992) *Cancer Chemother. Farmacol.* 30(2): 123-] 25, Crow et al. (1994) *J. Med. Chem.* 37(19): 3191-3194, e Crespi et al. (1986) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 136(2):521-8. Inibidores de topoisomerase II incluem, mas não são limitados a Etoposida e Teniposida. Inibidores duplos de topo isomerase I e II incluem, mas não são limitados a, Saintopin e outros Naftecenedionas, DACA e outras Acridina-4-Carboxamides, Intoplicina e outras Benzopiridoindolas, TAS-I03 e outras 7H-indeno[2,1-c] Quinolina-7-onas, Pirazoloacridina, XR 11576 e outras Benzofenazinas, XR 5944 e outros compostos diméricos, 7-oxo-7H-dibenz[f,ij] Isoquinolinas e 7-oxo-7H-benzo[e]pirimidinas, e conjugados ácidos de Antracenil-amino como descrito em Denny e Baguley (2003) *Curr. 20 Top. Med. Chem.* 3(3):339-353. Alguns agentes inibem Topo isomerase II e têm atividade de intercalação de DNA tal como, mas não limitada a, Antraciclinas (Aclarubicina, Daunorubicina, Doxorubicina, Epirubicina, Idarubicina, Amrubicina, Pirarubicina, Valrubicina, Zorubicina) e Antracenedionas (Mitoxantrona e Pixantrona).

25

Exemplos de agentes de indução de tensão de retículo endoplasmático incluem, mas não são limitados a, dimetil-celecoxib (DMC), nelfinavir, celecoxib, e radio sensibilizantes de boro (isto é velcade (Bortezomib)).

30 Compostos com base em platina são uma subclasse de agentes de alquilação de DNA. Exemplos não limitantes dos referidos agentes incluem Cisplatina, Nedaplatina, Oxaliplatina, tetranitrato de triplatina, Satraplatina, Aroplatina, Lobaplatina, e JM-216. (vide 35 McKeage et al. (1997) *J. Clin. Oncol.* 201:1232-1237 e em geral, CHEMOTHERAPY FOR GYNECOLOGICAL NEOPLASM, CURRENT THERAPY AND NOVEL APPROACHES, na Series Basic and Clinical Oncology, Angioli et al. Eds., 2004).

"FOLFOX" é uma abreviação para um tipo de terapia de combinação que é usada para tratar câncer cólon-retal. A mesma inclui 5-FU, oxaliplatina e leucovorina. Informação relativa a esse tratamento é oferecida no site do the National Cancer Institute's, cancer.gov, último acesso em 16 de Janeiro de 2008.

5 "FOLFOX/BV" é uma abreviação para um tipo de terapia de combinação que é usada para tratar câncer cólon-retal. A referida terapia inclui 5-FU, oxaliplatina, leucovorina e Bevacizumab. Ademais, "XELOX/BV" é outra terapia de combinação usada para tratar câncer cólon-retal, que inclui o pró-fármaco para 5-FU, conhecido como Capecitabina (Xeloda) em combinação com oxaliplatina e bevacizumab. Informação relativa aos referidos tratamentos estão disponíveis no web site do the National Cancer Institute's, cancer.gov ou a partir de 10 23 the National Comprehensive Cancer Network's web site, nccn.org, acessado por último em 27 de Maio de 2008.

15 Exemplos não limitantes de agentes antimetabólicos incluem com base em ácido fólico, isto é, inibidores de redutase diidrofolato, tal como Aminopterina, Metotrexato e Pemetrexed; inibidores de sintase de timidilato, tal como Raltitrexed, Pemetrexed; com base em Purina, isto é, um inibidor de adenosina de aminase, tal como Pentostatin, uma tiopurina, tal como Tioguanina e Mercaptopurina, um inibidor de redutase halogenado/ribonucleotídeo, tal como Cladribina, Clofarabina, Fludarabina, ou a guanina/com base em: tiopurina, tal como Tioguanina; ou Pirimidina, isto é, citosina/citidina: agente hipometilante, tal como Azacitidina 20 e Decitabina, um inibidor de polimerase de DNA, tal como Citarabina, um inibidor de redutase de ribonucleotídeo, tal como Gemcitabina, ou a timina/timidina: inibidor de sintase de timidilato, tal como uma Fluorouracila (5-FU). Equivalentes a 5-FU incluem profármacos, análogos e derivados dos mesmos tal como 5' -deoxi-5-fluorouridina (doxifluroidina), 1-tetrahidrofuranoil-5-fluorouracil (ftorafur), Capecitabina (Xeloda), S-I (MBMS-247616, consistindo de tegafur e dois moduladores, uma 5-cloro-2,4-diidroxipiridina e oxonato de potássio), ralititrexed (tomudex), nolatrexed (Timitaq, AG337), LY231514 e ZD9331, como descrito, por exemplo, em Papamichael (1999) The Oncologist 4:478-487.

25 Exemplos de vincalcalóides incluem, mas não são limitados a Vinblastina, Vincristina, Vinflunina, Vindesina e Vinorelbina.

30 Exemplos de taxanos incluem, mas não são limitados a docetaxel, Larotaxel, Orataxel, Paclitaxel e Tesetaxel. Um exemplo de uma epotilona é iabepilona.

Exemplos de inibidores de enzima incluem, mas não são limitados a inibidores de farnesiltransferase (Tipifarnib); inibidor de CDK (Alvocidib, Seliciclib); inibidor de proteasoma (Bortezomib); inibidor de fosfodiesterase (Anagrelide; rolipram); inibidor de IMP dehidrogenase (Tiazofurina); e inibidor de lipoxigenase (Masoprocol). Exemplos de receptores de antagonista incluem, mas não são limitados a ERA (Atrasentan); receptor de retinóide X (Bexarotene); e um esteroide sex (Testolactone).

Exemplos de inibidores de tirosina quinase incluem, mas não são limitados a inibidores de ErbB: HER1 EGFR (Erlotinib, Gefitinib, Lapatinib, Vandetanib, Sunitinib, Neratinib); HER2/neu (Lapatinib, Neratinib); RTK classe III: C-kit (Axitinib, Sunitinib, Sorafenib), FLT3 (Lestaurtinib), PDGFR (Axitinib, Sunitinib, Sorafenib); e VEGFR (Vandetanib, Semaxanib, Cediranib, Axitinib, Sorafenib); bcr-abl (Imatinib, Nilotinib, Dasatinib); Src (Bosutinib) e Janus kinase 2 (Lestaurtinib).

"Lapatinib" (Tykerb®) é um inibidor duplo EGFR e erbB-2. Lapatinib foi investigado como uma mono terapia anticâncer, assim como em combinação com trastuzumab, capecitabina, letrozole, paclitaxel e FOLFIRI (irinotecan, 5-fluorouracil e leucovorin), em uma série de testes clínicos. Está atualmente em fase III de teste para o tratamento oral de câncer de mama metastático, câncer de cabeça e pescoço, de pulmão, gástrico, renal e de bexiga.

Um produto químico equivalente de lapatinib é uma pequena molécula ou composto que é um inibidor de tirosina quinase (TKI) ou alternativamente um inibidor de HER-1 ou um inibidor de HER-2. Foi observado que diversos TKIs têm eficaz atividade anti tumor e foram aprovados ou estão em testes clínicos. Exemplos dos referidos incluem, mas não são limitados a, Zactima (ZD6474), Iressa (gefitinib), mesilato de imatinib (ST1571; Gleevec), erlotinib (OSI-1774; Tarceva), canertinib (CI 1033), semaxinib (SU5416), vatalanib (PTK787/ZK222584), sorafenib (BAY 43-9006), sutent (SUI 1248) e leflimomide (SUI OI).

PTK/ZK é um inibidor de tirosina quinase com ampla especificidade que tem como alvo todos os receptores VEGF (VEGFR), o receptor de fator de crescimento derivado de plaqueta (PDGF), c-KIT e c-Fms. Drebs (2003) Idrugs 6(8):787-794. PTK/ZK é um fármaco direcionado que bloqueia a angiogênese e linfangiogênese ao inibir a atividade de todos os receptores conhecidos que se ligam a VEGF incluindo VEGFR-1 (Fit-1), VEGFR-2 (KDR/Flik-1) e VEGFR- 3 (Flt-4). Os nomes químicos de PTK/ZK são succinato de 1-[4-Cloroanilino]-4-[4-piridilmetyl] ftalazina ou 1-ftalazinamina, N-(4-clorofenil)-4-(4-piridinilmetyl)-butanedioato (1:1). Sinônimos e análogos de PTK/TK são conhecidos como Vatalanib, CGP79787D, PTK787/ZK 222584, CGP-79787, DE-00268, PTK-787, PTK787A, VEGFR-TK inibidor, ZK 222584 e ZK.

Agentes quimio terapêuticos que podem ser conjugados com monoterpeno ou sesquiterpeno podem também incluir amsacrina, Trabectedina, retinóides (Alitretinoin, Tretinoin), tiróxido arsênico, Asparaginase/Pegaspargase de desgotamento de asparagina, Celecoxib, Demecolcina, Elesclomol, Elsamitrucin, Etoglucid, Lonidamina, Lucanthone, Mito-guazone, Mitotane, Oblimersen, Temsirolimus, e Vorinostat.

O derivado de monoterpeno ou sesquiterpeno pode ser conjugado com inibidores de angiogênese. Exemplos de inibidores de angiogênese incluem, mas não são limitados a, angiostatina, angiozima, antitrombina III, AG3340, inibidores VEGF, batimastat, bevacizumab (avastin), BMS-275291, CAI, 2C3, HuMV833 Canstatin, Captopril, carboxiamidotriazola,

inibidor derivado de cartilagem (CDI), CC-5013, 6-O-(cloroacetil-carbonil)-fumagillol, COL-3, combretastatina, fosfato de combretastatina A4, Dalteparina, EMD 121974 (Cilengitide), endostatina, erlotinib, gefitinib (Iressa), genisteina, hidrobrometo de halofuginona, Idl, Id3, IM862, mesilato de imatinib, IMC-IC 11 Indutível protein 10, interferon-alfa, interleucina 12, 5 lavendustina A, LY317615 ou AE-941, marimastat, mspin, acetato de medroxpregesterona, Meth-1, Meth-2, 2-methoxiestradiol (2-ME), neovastat, produto clivado de oteopontina, PEX, fator de crescimento de epitélio pigmento (PEGF), fator plaquetário 4, fragmento de prolactina, proteína relacionada a proliferina (PRP), PTK787/ZK 222584, ZD6474, fator plaquetário humano recombinante 4 (rPF4), restina, squalamina, SU5416, SU6668, SU11248 suramina, 10 Taxol, Tecogalan, talidomida, trombospondina, TNP-470, troponina-1, vasostatina, VEG1, VEGF-Trap, e ZD6474.

Exemplos não limitantes de inibidores de angiogênese também incluem, inibidores de tirosina quinase, tal como inibidores dos receptores detirosina quinase Flt-1 (VEGFR1) e Flk-I /KDR (VEGFR2), inibidores de fatores de crescimento derivados de epiderme, derivado 15 de fibroblasto, ou derivado de plaqueta, inibidores de MMP (matriz de metaloprotease), bloqueadores de integrina, polisulfato de pentosan, antagonistas de angiotensina II, inibidores de ciclo oxigenase (incluindo fármacos antiinflamatórios não esteroides (NSAIDs) tal como aspirina e ibuprofeno, assim como inibidores seletivos de ciclooxygenase-2 tal como celecoxib e rofecoxib), e antiinflamatórios esteroideos (tais como corticosteróides, mineralocorticoïdes, dexametasona, prednisona, prednisolona, metilpred, betametasona).

Outros agentes terapêuticos que modulam ou inibem a angiogênese e podem também ser conjugado com monoterpeno ou sesquiterpeno incluem agentes que modulam ou inibem os sistemas de coagulação e fibrinólise, incluindo, mas não limitados a, heparina, heparinas de baixo peso molecular e inibidores de carboxipeptidase U (também conhecidos 25 como inibidores do inibidor de fibrinólise ativável a trombina ativa [TAFIa]). Publicação de Patente US No. 20090328239. Patente USNo. 7,638,549.

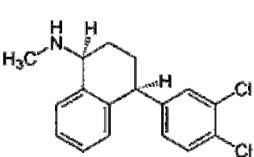
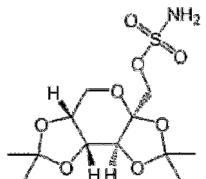
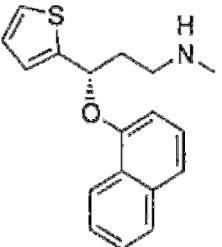
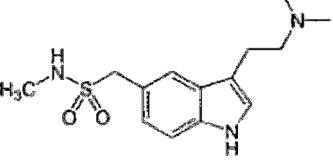
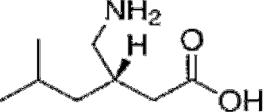
Exemplos não limitantes dos agentes anti-hipertensivos incluem inibidores de enzimas de conversão de angiotensina (por exemplo, captopril, enalapril, delapril etc.), antagonistas de angiotensina II (por exemplo, candesartan cilexetil, candesartan, losartan (ou Co-30 zaar), losartan potássio, eprosartan, valsartan (ou Diovan), termisartan, irbesartan, tasosartan, olmesartan, olmesartan medoxomil etc.), antagonistas de cálcio (por exemplo, manidipina, nifedipina, amlodipina (ou Amlodin), efonidipina, nicardipina etc.), diuréticos, inibidor de renina (por exemplo, alisquiren etc.), antagonistas de aldosterona (por exemplo, spironolactona, eplerenona etc.), beta-bloqueadores (por exemplo, metoprolol (ou Toporol), atenolol, 35 propranolol, carvedilol, pindolol etc.), vaso dilatadores (por exemplo, nitrato, estimulador ou ativador de ciclase guanilato solúvel, prostaciclina etc.), vacina de angiotensina, clonidina e semelhante. Publicação de Patente US No. 20100113780.

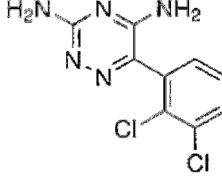
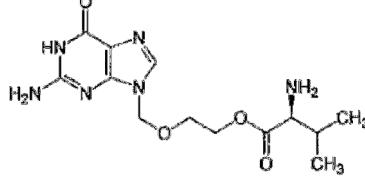
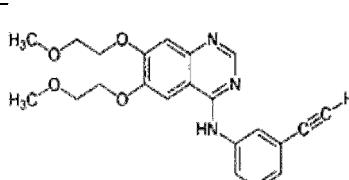
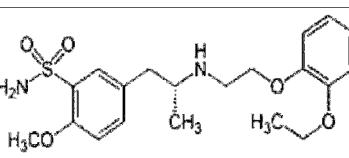
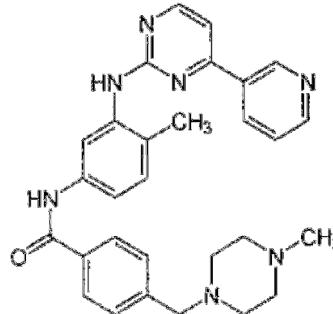
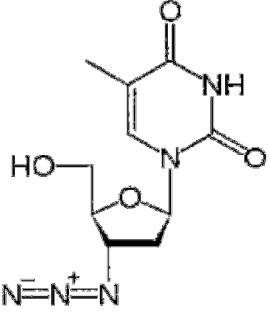
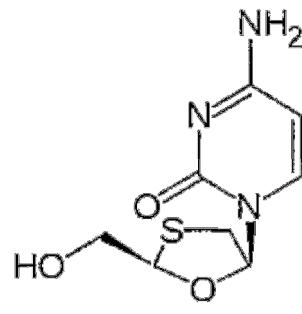
Outros agentes terapêuticos que podem ser conjugados com monoterpeno (ou sesquiterpeno) incluem, mas não são limitados a, Sertralina (Zoloft), Topiramato (Topamax), Duloxetina(Cymbalta), Sumatriptan (Imitrex), Pregabalina (Lyrica), Lamotrigina (Lamictal), Valaciclovir (Valtrex), Tamsulosin (Flomax), Zidovudina (Combivir), Lamivudina (Combivir),

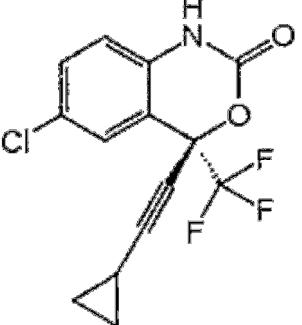
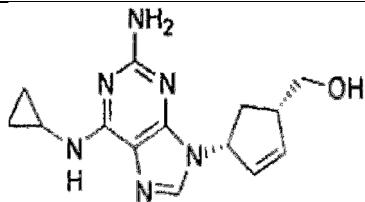
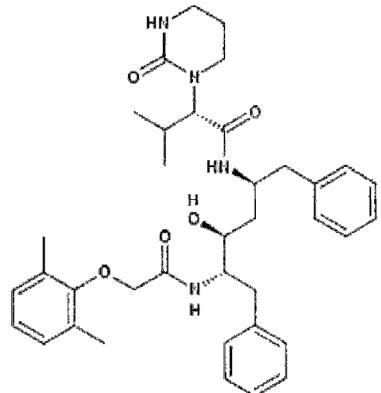
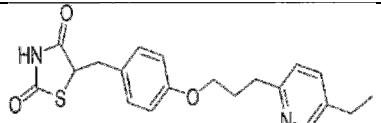
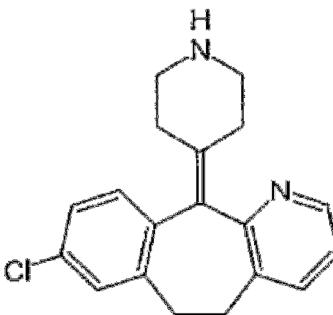
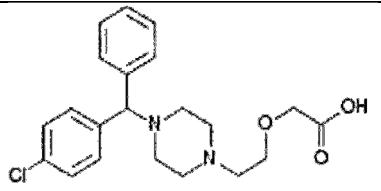
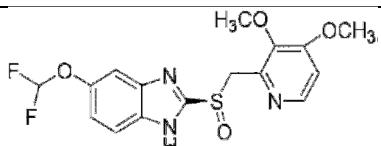
- 5 Efavirenz (Sustiva), Abacavir (Epzicom), Lopinavir (Kaletra), Pioglitazone (Actos), Desloratadina (Clarinex), Cetirizina (Zyrtec), Pentoprazola (Protonix), Lansoprazola (Prevacid), Rebeprazola (Acifex), Moxifloxacina (Avelox), Meloxicam (Mobic), Dorzolamida (Truspot), Diclofenaco (Voltaren), Enlalpril (Vasotec), Montelukast (Singulair), Sildenafil (Viagra), Carvedilol (Coreg), Ramipril (Delix).

- 10 A Tabela 1 relaciona os agentes farmacêuticos que podem ser conjugados com monoterpeno (ou sesquiterpeno), incluindo uma estrutura do agente farmacêutico e o derivado preferido para conjugação.

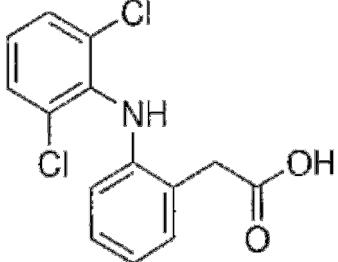
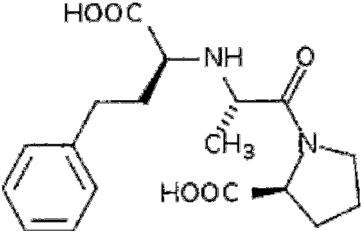
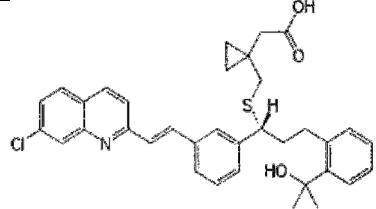
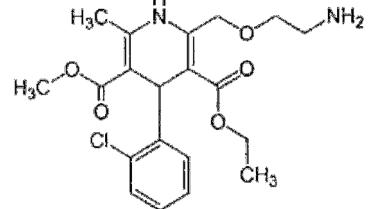
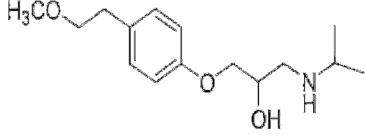
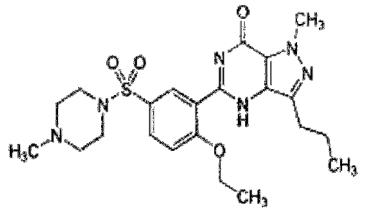
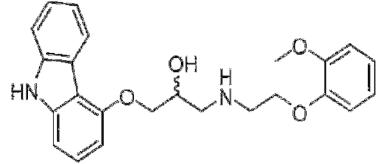
Table 1

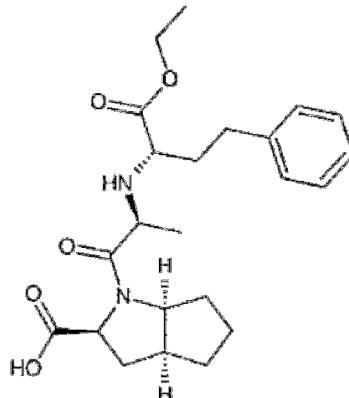
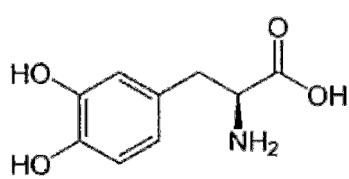
Nome da Marca	Nome genérico	Atividade	Estrutura	Derivado preferido
Zoloft	Sertalina	Depressão		Carbamato
Topamax	Topiramato	Epilepsia		Carbamato
Cymbalta	Duloxetina	Depressão		Carbamato
Imitrex	Sumatriptan	Enxaqueca		Carbamato
Lyrica	Pregabalina	Dor neuropática		Carbamato ou Éster

Lamictal	Lamotrigina	Epilepsia		Carbamato
Valtrex	Valaciclovir	Herpes		Carbamato
Tarceva	Erlotinib	Câncer de pulmão de célula não pequena		Carbamato
Flomax	Tamsulosin	Câncer prostático benigno		Carbamato
Gleevec	Imatinib	Leucemia		Carbamato
Combivir	Zidovudina	Infecção de HIV		Carbamato
Combivir	Lamivudina	Infecção de HIV		Carbonato

Sustiva	Efavirenz	Infecção de HIV		Carbamato
Epzicom	Abacavir	Infecção de HIV		Carbamato
Kaletra	Lopinavir	Infecção de HIV		Carbamato
Actos	Pioglitazona	Diabetes do tipo 2		Carbamato
Clarinex	Desloratadina	Rinite alérgica		Carbamato
Zyrtec	Cetirizina	Alergia		Éster
Protonix	Pentoprazola	Gastrointestinal		Carbamato



Voltaren	Diclofenaco	Osteoartrite e Artrite reumatóide		Carbamato ou Éster
Vasotec	Enlapipl	Hipertensão		Carbamato ou Éster
Singulair	Montelukast	Asma		Éster
Amlodin	Amlodipina	Hipertensão		Carbamato
Torpol	Metropol	Hipertensão		Carbamato
Viagra	Dildenafil	Disfunção erétil		Carbamato
Coreg	Carvedilol	Hipertensão		Carbamato

Delix	Ramipril	Hipertensão		Carbamato ou Éster
Sinemet (Parcopa, Atamet)	L-DOPA	Desordens neurológicas		Carbamato ou Éster

A pureza dos derivados demonoterpeno (ou sesquiterpeno) pode ser testada por cromatografia a gás (GC) ou cromatografia líquida de alta pressão (HPLC). Outras técnicas para testar a pureza dos derivados de monoterpeno (ou sesquiterpeno) e para determinar a presença de impurezas incluem, mas não são limitados a, espectroscopia de ressonância magnética nuclear (NMR), espectrometria de massa (MS), GC-MS, espectroscopia de infravermelho (IR), e cromatografia de camada delgada (TLC). A pureza quiral pode ser avaliada por GC quiral ou por medicao de rotação ótica.

Os derivados de monoterpeno (ou sesquiterpeno) podem ser purificados por métodos tais como cristalização, ou por separar o derivado de monoterpeno (ou sesquiterpeno) a partir das impurezas de acordo com as propriedades físico-químicas únicas (por exemplo, solubilidade ou polaridade) do derivado. Assim sendo, o derivado de monoterpeno (ou sesquiterpeno) pode ser separado a partir do monoterpeno (ou sesquiterpeno) por técnicas de separação adequadas conhecidas na técnica, tal como cromatografia de preparação, destilação (fracional), ou cristalização (fracional).

A presente invenção também proporciona métodos de usar derivados de monoterpenos (ou sesquiterpenos) para tratar uma doença, tal como câncer ou outras desordens do sistema nervoso. Um derivado de monoterpeno (ou sesquiterpeno) pode ser administrado isoladamente, ou em combinação com radiação, cirurgia ou agentes quimioterapêuticos. Um derivado de monoterpeno ou sesquiterpeno pode também ser administrado com agentes antivirais, agentes antiinflamatórios ou antibióticos. Os agentes podem ser administrados concomitantemente ou em sequência. Um derivado de monoterpeno (ou sesquiterpeno) pode ser administrado antes, durante ou após a administração do(s) outro(s) agente(s) ativo(s).

O derivado de monoterpeno ou sesquiterpeno pode ser usado em combinação com terapia de radiação. Em uma modalidade, a presente invenção proporciona um método de tratar células tumorais, tal como células de glioma malignas, com radiação, onde as células são tratadas com uma quantidade eficaz de um derivado de monoterpeno, tal como um carbamato de álcool perílico, e então expostas a radiação. O tratamento com derivado de monoterpeno pode ser realizado antes, durante e/ou após a radiação. Por exemplo, o derivado de monoterpeno ou sesquiterpeno pode ser administrado continuamente se iniciado uma semana antes do início da radioterapia e continuado por duas semanas após a conclusão da radioterapia. Patentes US Nos.5,587,402 e 5,602,184.

Em uma modalidade, a presente invenção proporciona um método de tratar células tumorais, tal como células de glioma malignas, com quimioterapia, onde as células são tratadas com uma quantidade eficaz de um derivado de monoterpeno, tal como um carbamato de álcool perílico, e então expostas à quimioterapia. O tratamento com derivado de monoterpeno pode ser realizado antes, durante e/ou após a quimioterapia.

Derivados de monoterpeno (ou sesquiterpeno) podem ser usados para o tratamento de cânceres do sistema nervoso, tal como um glioma maligno (por exemplo, astrocitoma, astrocitoma anaplástico, glioblastoma multiforme), retinoblastoma, astrocitomas pilocíticos (categoria I), meningiomas, tumores cerebrais metastáticos, neuroblastoma, adenomas de pituitária, meningiomas da base do cérebro, e câncer da base do cérebro. Como usado aqui, o termo "tumores do sistema nervoso" se refere a uma condição na qual um indivíduo tem uma proliferação maligna das células do sistema nervoso.

Cânceres que podem ser tratados pelos presentes derivados de monoterpeno (ou sesquiterpeno) incluem, mas não são limitados a, câncer de pulmão, câncer de orelha, nariz e garganta, leucemia, câncer de cólon, melanoma, câncer pancreático, câncer mamário, câncer de próstata, câncer de mama, câncer hematopoiético, câncer de ovário, carcinoma de célula basal, câncer do trato biliar; câncer de bexiga; câncer ósseo; câncer de mama; câncer cervical; coriocarcinoma; câncer cólon e reto; câncer do tecido conectivo; câncer do sistema digestivo; câncer do endométrio; câncer do esôfago; câncer ocular; câncer de cabeça e pescoço; câncer gástrico; neoplasma intra-epitelial; câncer dos rins; câncer de laringe; leucemia incluindo leucemia mielóide aguda, leucemia linfóide aguda, leucemia mielóide crônica, leucemia linfóide crônica; câncer de fígado; linfoma incluindo de Hodgkin's e Não-Hodgkin's; mieloma; fibroma, neuroblastoma; câncer da cavidade oral (por exemplo, lábios, língua, boca, e faringe); câncer de ovário; câncer pancreático; câncer de próstata; retinoblastoma; rhabdomiosarcoma; câncer do reto; câncer renal; câncer do sistema respiratório; sarcoma; câncer de pele; câncer do estômago; câncer testicular; câncer da tireoide; câncer do útero; câncer do sistema urinário, assim como outros carcinomas e sarcomas. Patente USNo. 7,601,355.

A presente invenção também proporciona métodos de tratar desordens do SNC, incluindo, sem limitação, desordens neurológicas degenerativas primárias tal como Alzheimer's, Parkinson's, desordens psicológicas, psicose e depressão. Tratamento pode consistir do uso de um derivado de monoterpeno ou sesquiterpeno isoladamente ou em combinação com as medicações atuais usadas no tratamento de Parkinson's, Alzheimer's, ou desordens psicológicas.

5 A presente invenção também proporciona um método de aprimorar as respostas à terapia imunomodulatória compreendendo as etapas de expor as células a uma quantidade eficaz de um derivado de monoterpeno ou sesquiterpeno, tal como um carbamato de álcool perílico, antes ou durante tratamento imunomodulatório. Agentes imunomodulatórios preferidos são citocinas, tais como interleucinas, linfocinas, monocinas, interferons e quimiocinas.

10 A presente composição pode ser administrada por qualquer método conhecido na técnica, incluindo, sem limitação, administração intranasal, oral, transdérmica, ocular, intra-peritoneal, inalação, intravenosa, ICV, injeção ou infusão intracisternal, subcutânea, implantar, vaginal, sublingual, uretral (por exemplo, supositório uretral), subcutânea, intramuscular, intravenosa, retal, sublingual, mucosal, oftalmica, espinhal, intratecal, intra-articular, intra-arterial, sub-araquionóide, brônquica e linfática. A formulação tópica pode ser na forma de gel, unguento, creme, aerossol, etc; a formulação intranasal pode ser enviada como um spray ou em gotas; a formulação transdérmica pode ser administrada via um adesivo transdérmico ou iontoporese; formulação para inalação pode ser enviada usando um nebulizador ou dispositivo similar. Com posições podem também adotar a forma de tabletes, pílulas, cápsulas, semisólidos, pós, formulações de liberação sustentada, soluções, suspensões, elixires, aerossóis, ou quaisquer outras composições apropriadas.

15 Para se preparar as referidas composições farmacêuticas, um ou mais dos derivados de monoterpeno (ou sesquiterpeno) pode ser misturado com um veículo farmacêutico aceitável, adjuvante e/ou excipiente, de acordo com as técnicas de composição farmacêutica convencionais.

20 Veículos farmaceuticamente aceitáveis que podem ser usados nas presentes composições englobam quaisquer veículos farmacêuticos padrão, tal como uma solução salina tamponada a fosfato, água, e emulsões, tais como uma emulsão de óleo / água ou água / óleo, e variastípos de agentes umectantes. As composições podem adicionalmente conter excipientes farmacêuticos sólidos tais como amido, celulose, talco, glicose, lactose, sucrose, gelatina, malte, arroz, farinha, giz, sílica gel, estearato de magnésio, estearato de sódio, monoestearato de glicerol, cloreto de sódio, leite em pó desnatado e semelhante. Excipientes líquidos e semi-sólidos podem ser selecionados a partir de glicerol, propilenoglicol, água, etanol e váriosóleos, incluindo os de petróleo, animal, vegetal ou de origem sintética, por exemplo, óleo de amendoim, óleo de soja, óleo mineral, óleo de gergelim, etc. Veículos lí-

quidos, particularmente para soluções injetáveis, incluem água, salina, dextrose aquosa, e glicóis. Para exemplos de veículos, estabilizantes e adjuvantes, vide Remington's Pharmaceutical Sciences, editado por E. W. Martin (Mack Publishing Company, 18th ed., 1990). As composições também podem incluir estabilizantes e conservantes.

5       Como usado aqui, o termo "quantidade terapeuticamente eficaz" é uma quantidade suficiente para tratar uma desordem ou doença especificada ou alternativamente para obter uma resposta farmacológica tratando a desordem ou doença. Métodos de determinados meios mais eficazes e a dosagem de administração pode variar com a composição usada-para terapia, com o objetivo da terapia, as células alvo sendo tratadas, e o indivíduo sendo-  
10      tratado. As dosagens de tratamentoem geral podem ser tituladas para otimizar a segurança e a eficácia. Administrações únicas ou múltiplas podem ser realizadas com o nível da dose e padrão sendo selecionados pelo médico. Formulações de dosagem adequadas e métodos de administrar os agentes podem ser prontamente determinados por aqueles versados na  
15      técnica. Por exemplo, a composição é administrada de cerca de 0,01 mg/kg a cerca de 200 mg/kg, cerca de0,1 mg/kg a cerca de 100 mg/kg, ou cerca de0,5 mg/kg a cerca de 50 mg/kg.  
Quando os compostos descritos aqui são coadministrados com outro agente ou terapia, a  
20      quantidade eficaz pode ser menor do que quando o agente é usado isoladamente.

Formulações tansdérmicas podem ser preparada incorporando o agente ativo em um veículo tixotropico ou gelatinoso tal como um meio de celulose, por exemplo, celulose de  
20      metila ou hidróxietil celulose, com a formulação resultante então sendo embalada em um dispositivo transdérmico adaptado para ser fixado em contato dérmico com a pele de um usuário. Se a composição estiver na forma de um gel, a composição pode ser friccionada em uma membrana do paciente, por exemplo, a pele, preferivelmente pele intacta, limpa, e  
25      seca, do ombro ou parte superior do braço e ou a parte superior do torso, e mantida na mesma por um período de tempo suficiente para o envio do derivado de monoterpeno (ou sesquiterpeno) ao soro sanguíneo do paciente. A composição da presente invenção em forma de gel pode ser contida em um tubo, um sachê, ou uma bomba dosada. O referido tubo ou sachê pode conter uma dose unitária, ou mais do que uma dose unitária, da composição. A bomba dosada pode ser capaz de dispensar uma dose medida da composição.

30      A presente invenção também proporciona as composições como descritas acima-para administração intranasal. Como tal, as composições podem adicionalmente compreender um intensificador de permeação. Southall et al. Developments in Nasal Drug Delivery. 2000. O derivado de monoterpeno (ou sesquiterpeno) pode ser administrado por via intranasal em uma forma líquida tal como uma solução, uma emulsão, uma suspensão, gotas, ou  
35      em uma forma sólida tal como um pó, gel, ou unguento. Dispositivos para enviar medicações intranasais são bem conhecidos na técnica. O envio de fármaco por via nasal pode ser realizado usando dispositivos incluindo, mas não limitados a, inaladores intranasais, dispositi-

tivos de pulverização intranasais, atomizadores, frascos de pulverização nasal, recipientes de dose unitária, bombas, gotejadores, frascos de apertar, nebulizadores, inaladores de dose medida (MDI), inaladores de dose pressurizada, insufladores, e dispositivos bidirecionais. O dispositivo de envio nasal pode ser medido para administrar uma quantidade de dosagem efetiva precisa na cavidade nasal. O dispositivo de envio nasal pode ser para o envio de uma única dose ou o envio de múltiplas unidades. Em um exemplo específico, o Atomizador Eletrônico Via Nasal oferecido pela Kurve Technology (Bethell, Washington) pode ser usado na presente invenção (<http://www.kurvetech.com>). Os compostos da presente invenção podem também serem via dosagem através de um tubo, um cateter, uma seringa, a packtail, uma atadura, um tampão nasal ou por infusão em submucosa. Publicações de Patentes US Nos. 20090326275, 20090291894, 20090281522 e 20090317377.

O derivado de monoterpeno (ou sesquiterpeno) pode ser formulado como aerossóis usando procedimentos padrão. O derivado de monoterpeno (ou sesquiterpeno) pode ser formulado com ou sem solventes, e formulado com ou sem veículos. A formulação pode ser uma solução, ou pode ser uma emulsão aquosa com um ou mais tensoativos. Por exemplo, um pulverizador de aerossol pode ser gerado a partir de um recipiente pressurizado com um propelente adequado tal como, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, hidrocarbonetos, ar comprimido, nitrogênio, dióxido de carbono, ou outro gás adequado. A unidade de dosagem pode ser determinada ao proporcionar uma válvula para enviar uma quantidade medida. Dispensadores de bomba de pulverização podem dispensar uma dose medida ou uma dose tendo um tamanho específico de partícula ou de gotícula. Como usado aqui, o termo "aerossol" se refere a uma suspensão de partículas finas sólidas ou gotículas de solução líquida em um gás. Especificamente, aerossol inclui uma suspensão de gotículas veiculadas a gás de um monoterpeno (ou sesquiterpeno), como pode ser produzido em qualquer dispositivo adequado, tal como um MDI, um nebulizador, ou um pulverizador de névoa. Aerossol também inclui uma composição de pó seco da composição da presente invenção suspensa no ar ou outro veículo de gás. Gonda (1990) Critical Reviews in Therapeutic DrugCarrier Systems 6:273-313. Raeburn et al., (1992) Farmacol. Toxicol. Methods 27:143-159.

O derivado de monoterpeno (ou sesquiterpeno) pode ser enviado à cavidade nasal como um pó em uma forma tal como micro esferas enviadas por um insuflador nasal. O derivado de monoterpeno (ou sesquiterpeno) pode ser absorvido em uma superfície sólida, por exemplo, um veículo. O pó ou microesferas podem ser administrados em uma forma seca dispensável a ar. O pó ou micro esferas podem ser armazenados em um recipiente do insuflador. Alternativamente o pó ou micro esferas podem ser preenchidos em uma cápsula, tal como uma cápsula de gelatina, ou outra unidade de dose única adaptada para administração nasal.

A composição farmacêutica pode ser enviada a uma cavidade nasal por colocação direta de uma composição em uma cavidade nasal, por exemplo, na forma de um gel, umunguento, uma emulsão nasal, uma loção, um creme, um tampão nasal, um gotejador, ou uma tira bioadesiva. Em determinadas modalidades, pode ser desejável se prolongar o tempo de estadia da composição farmacêutica em uma cavidade nasal, por exemplo, para aumentar a absorção. Assim, a composição farmacêutica pode opcionalmente ser formulado com um polímero bioadesivo, uma goma (por exemplo, goma xantano), quitosan (por exemplo, polissacarídeo catiônico altamente purificado), pectina (ou qualquer carboidrato que se espesse tal como um gel ou que emulsifique quando aplicado à mucosa nasal), uma micro esfera (por exemplo, amido, albumina, dextrano, ciclodextrina), gelatina, um lipossomo, carbâmero, álcool polivinílico, alginato, acácia, quitosanos e/ou celulose (por exemplo, metila ou propila; hidroxila ou carbóxi; carbóximetila ou hidróxilpropila).

A composição contendo o monoterpeno (ou sesquiterpeno) purificado pode ser administrada por inalação oral no trato respiratório, isto é, os pilmões.

Sistemas de envio típicos para os agentes inaláveis incluem nebulizadores de pó seco (DPI), e inaladores de dose medida (MDI).

Dispositivos nebulizadores produzem uma corrente de ar de alta velocidade que faz com que um agente terapêutico na forma de líquido pulverize como uma névoa. O agente terapêutico é formulado em uma forma líquida tal como uma solução ou uma suspensão de partículas de tamanho adequado. Em uma modalidade, as partículas são micronizadas. O termo "micronizado" é definido como tendo cerca de 90% ou mais de partículas com um diâmetro de menos do que cerca de 10 µL. Dispositivos nebulizadores adequados são proporcionados comercialmente, por exemplo, por PARI GmbH (Starnberg, Germany). Outros dispositivos nebulizadores incluem Respimat (Boehringer Ingelheim) e os descritos, por exemplo, nas Patentes US Nos. 7,568,480 e 6,123,068, e WO 97/12687. Os monoterpenos (ou sesquiterpenos) podem ser formulados para uso em um dispositivo nebulizador como uma solução aquosa ou como uma suspensão líquida.

Dispositivos DPI tipicamente administram um agente terapêutico na forma de um pó de fluxo livre que pode ser dispersado na corrente de ar do paciente durante a inspiração. Dispositivos DPI que usam uma fonte de energia externa pode também ser usado na presente invenção. De modo a alcançar um pó de fluxo livre, o agente terapêutico pode ser formulado com um excipiente adequado (por exemplo, lactose). Uma formulação de pó seco pode ser produzida, por exemplo, ao se combinar lactose seca tendo um tamanho de partícula entre-cerca de 1 µm e 100 µm com partículas micronizadas de monoterpenos (ou sesquiterpenos) e mistura seca. Alternativamente, o monoterpeno pode ser formulado sem excipientes. A formulação é abastecida em um dispensador de pó seco, ou em cartuchos de inalação ou cápsulas para uso com um dispositivo de envio de pó seco. Exemplos de Dispositivos DPI-

proporcionados comercialmente incluem Diskhaler (GlaxoSmithKline, Research Triangle Park, N.C.) (vide, por exemplo, Patente USNo. 5,035,237); Diskus (GlaxoSmithKline) (vide, por exemplo, Patente US No. 6,378,519; Turbuhaler (AstraZeneca, Wilmington, Del.) (vide, por exemplo, Patente US No. 4,524,769); e Rotahaler (GlaxoSmithKline) (vide, por exemplo,

- 5 Patente US No. 4,353,365). Adicionalmente exemplos de Dispositivos DPI adequados são-  
descritosnas Patentes US Nos. 5,415,162, 5,239,993, e 5,715,810 e referencias nas mes-  
mas.

Dispositivos MDI tipicamente descarregam uma quantidade medida do agente terapêutico usando gás propelente comprimido. Formulações para a administração de MDI incluem uma solução ou suspensão de ingrediente ativo em um propelente liquefeito. Exemplos de propelente incluem hidrofluoroalcanos (HFA), tal como 1,1,1,2-tetrafluoroetano (HFA 134a) e 1,1, 1,2,3,3-heptafluoro-n-propano, (HFA 227), e clorofluorocarbonos, tais como  $\text{CCl}_3\text{F}$ . Componentes adicionais das formulações HFA para administração de MDI incluem co-solventes, tais como etanol, pentano, água; e tensoativos, tais como trioleato de sorbitano, ácido oleico, lecitina, e glicerina. (vide, por exemplo, Patente USNo. 5,225, 183, EP 0717987, e WO 92/22286). A formulação é abastecida em um recipiente de aerossol, que forma uma porção de um dispositivo MDI. Exemplos de dispositivos MDI desenvolvidos especificamente para uso com propelente HFA são proporcionados nas Patentes US Nos.6,006,745 e 6, 143,227. Como exemplos de processos de preparar formulações adequadas e dispositivos adequados para dosagem de inalação vide Patentes US Nos.6,268,533, 5,983,956, 5,874,063, e 6,221,398, e WO 99/53901, WO 00/61108, WO 99/55319 e WO 00/30614.

O derivado de monoterpeno (ou sesquiterpeno) pode ser encapsulado em lipossomos ou microcápsulas para o envio via inalação. Um lipossomo é uma vesícula composta de uma membrana de dupla camada de lipídeo e um interior aquoso. A membrana de lipídeo pode ser produzida de fosfolipídeos, exemplos dos quais incluem fosfatidilcolina tal como lecitina e lisolecitina; fosfolipídeos acídicos tais como fosfatidilserina e fosfatidilglicerol; e esfingofosfolipídeos tal como fosfatidiletanolamina e esfingomielina. Alternativamente, colesterol pode ser adicionado. A microcápsula é uma partícula revestida com um material de revestimento. Por exemplo, o material de revestimento pode consistir de uma mistura de um polímero de formação de filme, um plastificante hidrófobo, um agente ativante de superfície e/ou um polímero contendo nitrogênio lubrificante. Patentes US Nos. 6,313, 176 e 7,563,768.

O derivado de monoterpeno (ou sesquiterpeno) pode também ser usado isoladamente ou em combinação com outros agentes quimioterapêuticos via aplicação tópica para o tratamento de cânceres localizados tais como câncer de mama ou melanomas. O derivado de monoterpeno (ou sesquiterpeno) pode também ser usado em combinação com narcóticos.

cos ou analgésicos para o envio transdérmico de medicação para dor.

A presente invenção também proporciona as composições como descritas acima para administração ocular. Como tal, as composições podem adicionalmente compreender um intensificador de permeação. Para a administração ocular, as composições descritas aqui podem ser formuladas como uma solução, emulsão, suspensão, etc. Uma variedade de veículos adequados para administrar compostos aos olhos são conhecidos na técnica. Exemplos específicos não limitantes são descritos em Patentes US Nº. 6,261,547; 6,197,934; 6,056,950; 5,800,807; 5,776,445; 5,698,219; 5,521,222; 5,403,841; 5,077,033; 4,882,150; e 4,738,851.

O derivado de monoterpeno (ou sesquiterpeno) pode ser dados isoladamente ou em combinação com outros fármacos para o tratamento das doenças acima por um curto ou prolongado período de tempo. As presentes composições podem ser administradas a um mamífero, preferivelmente a um ser humano. Mamíferos incluem, mas não são limitados a, murinos, ratos, coelhos, símios, bovinos, ovinos, porcinos, caninos, felinos, animais de fazenda, animais esportivos, animais de essstimação, equinos, e primatas.

A presente invenção também proporciona um método para inibir o desenvolvimento de uma célula in vitro, ex vivo ou in vivo, onde a célula, tal como uma célula cancerosa, é colcoada em contato com uma quantidade eficaz do derivado de monoterpeno (ou sesquiterpeno) como descrito aqui.

Células ou tecidos patológicos tais como células ou tecidos hiper proliferativos podem ser tratados ao colcoar em contato as células ou tecido com uma quantidade eficaz da composição da presente invenção. As células, tal como células de câncer, podem ser células primárias de câncer ou podem ser células cultivadas disponíveis a partir de bancos de tecidos tal como the American Type Culture Collection (ATCC). As células patológicas podem ser células de um câncer sistêmico, gliomas, meningiomas, adenomas de pituitária, ou uma metástase do SNC a partir de um câncer sistêmico, câncer de pulmão, câncer de próstata, câncer de mama, câncer hematopoiético ou câncer de ovário. As células podem ser a partir de um vertebrado, preferivelmente um mamífero, mais preferivelmente um ser humano. Publicação de Patente US Nº 2004/0087651. Balassiano et al. (2002) Intern. J. Mol. Med. 10:785-788. Thorne, et al. (2004) Neuroscience 127:481-496. Fernandes, et al. (2005) Oncology Reports 13:943-947. Da Fonseca. et al. (2008) Surgical Neurology 70:259267. Da Fonseca, et al. (2008) Arch. Immunol. Ther. Exp. 56:267-276. Hashizume, et al. (2008) Neurooncology 10:112- 120.

A eficácia in vitro da presente composição pode ser determinada usando métodos bem conhederidos na técnica. Por exemplo, acitoxicidade do presente monoterpeno (ou sesquiterpeno) e/ou o agentes terapêuticos pode ser estudada por teste de citotoxicidade de MTT [brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolio]. O teste de MTT é com base

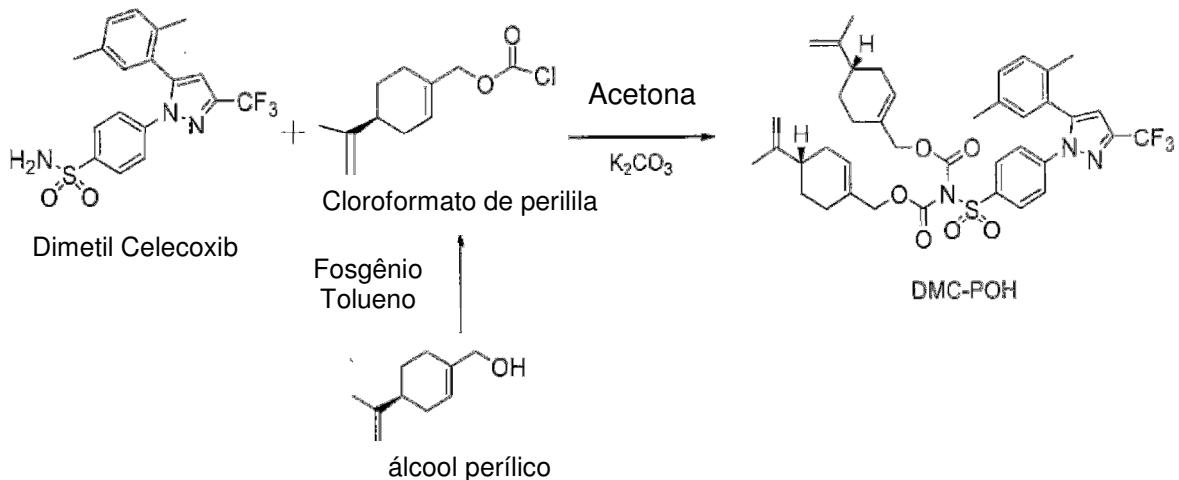
no princípio de captação de MTT, um sal tetrazólio, por células metabolicamente ativas onde o mesmo é metabolizado em um produto de formazon de cor azul, que pode ser lido por expectrometria. J. of Immunological Methods 65: 55-63, 1983. A citotoxicidade do presente derivado de monoterpeno (ou sesquiterpeno) e/ou os agentes terapêuticos podem ser estudados por teste de formação de colônia. Os testes funcionais para inibição de secreção de VEGF e secreção de IL-8 podem ser realizados via ELISA. O bloqueio do ciclo celular pelo presente derivado de monoterpeno (ou sesquiterpeno) e/ou os agentes terapêuticos pode ser estudado por coloração de iodeto de propídeo padrão (PI) e citometria de fluxo. A inibição da invasão pode ser estudada pelas camaras de Boyden. No referido teste uma camada de membrana basal reconstituída, Matrigel, é revestida em filtros de quimiotaxe e age como uma barreira para a migração de células nas câmaras de Boyden. Apenas as células com capacidade invasiva podem cruzar a barreira de Matrigel. Outros testes incluem, mas não são limitados a testes de viabilidade celular, teste de apoptose, e testes morfológicos.

A seguir são exemplos da presente invenção e não devem ser construídos como limitantes.

#### Exemplos

Exemplo 1: Síntese de Dimetil Celecoxib bis POH Carbamato (4-(bis-N,N'-4-isopropenil ciclohex-1-enilmetiloxi carbonil [5-(2,5-dimetil fenil)-3-trifluorometil pirazol-1-il] benzenosulfonamida)

O esquema de reação é o a seguir:



Fosgênio (20% em tolueno, 13 mL, 26.2 mmol) foi adicionado a uma mistura de álcool perílico (2,0 gramas, 13,1 mmol) e carbonato de potássio (5.4 gramas, 39.1 mmol) em tolueno seco (30 mL) por um período de 30 minutos ao mesmo tempo em que se mantém a temperatura entre 10 °C a 15 °C. A mistura de reação foi permitida aquecer a temperatura ambiente e agitada por 8.0 horas sob N<sub>2</sub>. A mistura de reação foi resfriada com água (30 mL) e a camada orgânica foi separada. A camada aquosa foi extraída com tolueno (20 mL) e a camada orgânica combinada foi lavada com água (50 mL x 2), salmoura (15%, 30 mL) e

seca sobre sulfato de sódio (20 gramas). A camada orgânica filtrada foi concentrada sob vácuo para se obter cloroformato de perilila como um óleo. Peso: 2.5 gramas; Rendimento: 89%.  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1,5 (m, 1 H), 1 .7 (s, 3H), 1 .8 (m, 1 H), 2,0 (m, 1H), 2.2 (m, 4H), 4.7 (dd, 4H); 5.87 (m, 1H).

5 Cloroformato de perilila (0,11 gramas, 0,55 mmol) foi adicionado lentamente a uma mistura de dimetil celecoxib (0,2gramas, 0,50 mmol) e carbonato de potássio (0,13 gramas, 1,0 mmol) em acetona seca (10 mL) por um período de 5 minutos sob  $\text{N}_2$ . A mistura de reação foi aquecida ao refluxo e mantida por 3 horas. Uma vez que a análise de TLC indicou a presença de dimetil celecoxib (> 60%), outro1,0 equivalente de cloroformato de perilila foi 10 adicionado e refluído por mais 5 horas adicionais. A mistura de reação foi resfriada e a acetona foi concentrada sob vácuo para se obter um resíduo.

15 O resíduo resultante foi suspenso em água (15 mL) e extraído com acetato de etila (3x15 mL). A camada orgânica combinada foi lavada com água (20 mL) seguido por salmoura (15%, 20 mL) e seca sobre sulfato de sódio. A camada orgânica filtrada foi concentrada- sob vácuo para se obter um resíduo que foi purificado por cromatografia de coluna [dimensões da coluna: diâmetro:1,5 cm, altura:10 cm, sílica: 230-400 malha] e eluída com hexanos (100 mL) seguido por uma mistura de hexanos/acetato de etila (95:5, 100 mL). As frações de hexano/acetato de etila foram combinadas e concentradas sob vácuo para se obter uma massa gomosa.

20 O produto POH carbamato exibiu um peso de 120 mg e um rendimento de 31 %.  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 0.9 (m, 2H), 1 .4 (m, 2H), 1.7 (m, 7H\*), 1.95 (m, 8H\*), 2.1 (m, 4H), 2.3 (s, 3H), 4.4 (d, 2H), 4.7 (dd, 2H), 5.6 (br d, 2H), 6.6 (s, 1H), 7.0 ( br s, 1 H), 7.12 (d, 1H), 7.19 (d, 1H), 7.4 (d, 2H), 7.85 (d, 2H); MS, m/e: 751.8 ( $\text{M}^+$  3%), 574.3 (100%), 530,5 (45%), 396 (6%). \* N.B. adicionalmente 2H se sobrepondo a partir de impureza presumida 25 descontada em integração de NMR.

Exemplo 2: Estudos de Citotoxicidade *in vitro* de Dimetil Celecoxib bisPOH Carbamato (POH-DMC)

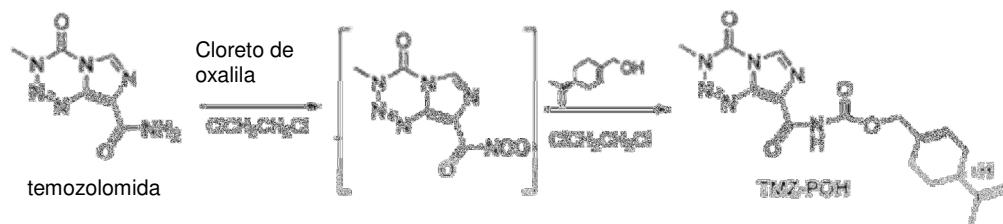
30 Primeiro testes de citotoxicidade foram realizados e após as células foram tratadas com dimetil-celecoxib (DMC) isoladamente. A figura 1 mostra os resultados dos testes de citotoxicidade de MTT realizada em células humanas de glioma malignas U87, A 172 e U251 com DMC isoladamente.

Então células U87, A172 e U251 foram tratadas com dimetil celecoxib bisPOH carbamato (POH-DMC) (por exemplo, sintetizados pelo método no Exemplo 1), e os testes de citotoxicidade MTT realizados (figura 2). Os resultados sugerem que POH carbamato POH- 35 DMC exibiu citotoxicidade muito melhor do que DMC isoladamente.

Exemplo 3: Síntese de Temozolomida POH Carbamato de éster 4-isopropenil ciclohex-1-enilmétílico do ácido (3-metil 4-oxo-3,4-diidroimidazo[5,1-l-d][1,2,3,5] tetrazina-8-

carbonil)-carbâmico)

O esquema de reação é o a seguir:



Cloreto de oxalila (0,13 gramas, 1,0 mmol) foia dicionado lentamente a uma mistura de temozolomida (OChem Incorporation, 0,1gramas, 0,5 mmol) em 1,2-dicloroetano (10 mL) por um período de 2 minutos ao mesmo tempo em que se mantém a temperatura a 10° C sob N<sub>2</sub>. A mistura de reação foi permitida aquecer a temperatura ambiente e então aquecida ao refluxo por 3 horas. O excesso de cloreto de oxalila e 1,2-dicloroetano foram removidos por concentração sob vácuo. O resíduo resultante foi redissolvido em 1,2-dicloretano (15 mL) e a mistura de reação foi resfriada a 10° C sob N<sub>2</sub>. A solução de álcool perílico (0,086 gramas, 0,56 mmol) em 1,2-dicloroetano (3mL) foi adicionada por um período de 5 minutos. A mistura de reação foi permitida aquecer a temperatura ambiente e agitada por 14 horas. 1,2-dicloroetano foi concentrado sob vácuo para se obter um resíduo, que foi triturado com hexanos. O sólido amarelo resultante foi filtrado e lavado com hexanos. Peso: 170 mg; Rendimento: 89%. <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.4-2.2 (m, 10H), 4.06 (s, 3H), 4.6-4.8 (m, 4H), 5.88 (br s, 1H), 8.42 (s, 1H), 9.31 (br s, 1H); MS, nenhum pico de íon molecular foi observado, m/e: 314 (100%), 286.5 (17%), 136 (12%).

Alternativamente, temozolomida POH carbamato foi sintetizado de acordo com o procedimento a seguir. Cloreto de oxalila (0,13 gramas, 1,0 mmol) foi adicionado lentamente a uma mistura de temozolomida (OChem Incorporation, 0,1gramas, 0,5 mmol) em 1,2-dicloroetano (10 mL) por um período de 2 minutos ao mesmo tempo em que se mantém a temperatura a 10 °C sob N<sub>2</sub>. A mistura de reação foi permitida aquecer a temperatura ambiente e então aquecida ao refluxo por 3 horas. O excesso de cloreto de oxalila e 1,2-dicloroetano foram removidos por concentração sob vácuo. O resíduo resultante foi redissolvido em 1,2-dicloretano (15 mL) e a mistura de reação foi resfriada a 10 °C sob N<sub>2</sub>. A solução de álcool perílico (0,086 gramas, 0,56 mmol) em 1,2-dicloroetano (3mL) foi adicionada por um período de 5 minutos. A mistura de reação foi permitida aquecer a temperatura ambiente e agitada por 14 horas. 1,2-Dicloroetano foi concentrada sob vácuo para se obter um resíduo, que foi purificado por uma coluna curta com tampão de sílica (dimensões da coluna: diâmetro: 2 cm, altura: 3 cm, sílica: 230-400 malha) e eluída com uma mistura de hexanos/acetato de etila (1:1, 100 mL). As frações de hexano/acetato de etila foram combinadas e concentradas sob vácuo para se obter um resíduo de sólido branco que foi triturado com heptanos e filtrado para se obter a sólido branco. Peso: 170 mg; Rendimento: 89%. <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 1.4-2.2 (m, 10H), 4.06 (s, 3H), 4.6-4.8 (m, 4H), 5.88 (br s, 1H), 8.42 (s, 1H),

9.31 (br s, 1H); MS, nenhum pico de íon molecular foi observado, m/e: 314 (100%), 286.5 (17%), 136 (12%).

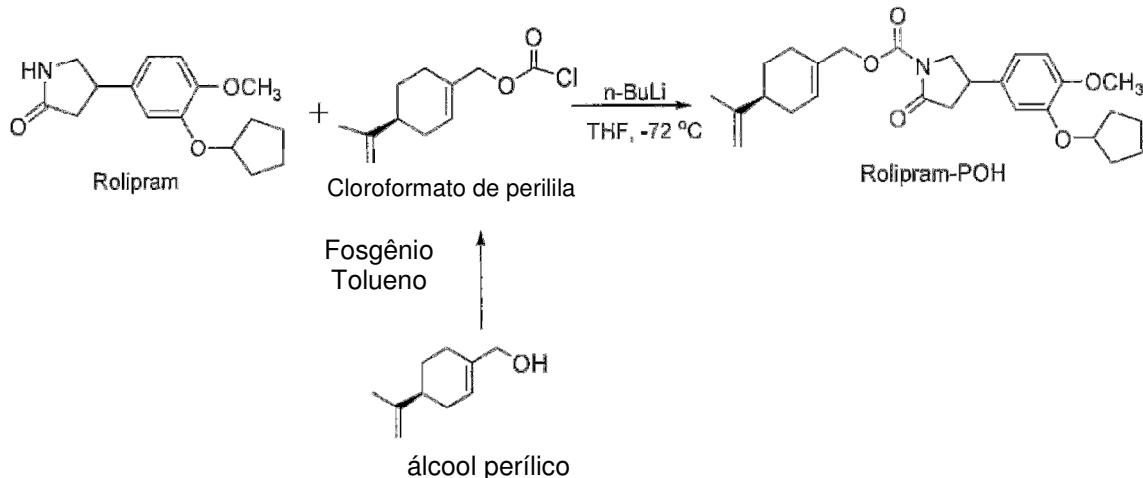
Exemplo 4: Estudos de Citotoxicidade in vitro de Temozolomida POH Carbamato (POH-TMZ)

5 Primeiro testes de citotoxicidade foram realizados e após as células foram tratadas com temozolomida (TMZ) isoladamente, o agente de alquilação padrão usado no tratamento de gliomas malignos. A figura 3 mostra os resultados dos testes de citotoxicidade de MTT realizada em células humanas de glioma malignas U87, A 172 e U251 com TMZ isoladamente. Concentrações crescentes de TMZ têm citotoxicidade mínima em relação às linhagens de células testadas.

10 Então linhagens celulares de glioma resistente a TMZ das células U87, A172 e U251 foram tratadas com temozolomida POH carbamato (POH-TMZ) (por exemplo, sintetizadas pelo método no Exemplo 3). Os resultados do teste MTT (figura 4) mostraram que POH carbamato POH-TMZ exibiu substancialmente coeficientes de extermínio mais altos  
15 das várias células de glioma humano comparadas ao TMZ isoladamente.

Exemplo 5: Síntese de Rolipram POH Carbamato (éster 4-isopropenil ciclohex-1-enilmétílico de ácido 4-(3-ciclopentiloxi-4-metoxi fenil)-2-oxo-pirrolidina-1-carboxílico)

O esquema de reação é o a seguir:



Fosgênio (20% em tolueno, 13 mL, 26,2 mmol) foi adicionado a uma mistura de álcool perílico (2,0 gramas, 13,1 mmol) e carbonato de potássio (5,4 gramas, 39,1 mmol) em tolueno seco (30 mL) por um período de 30 minutos ao mesmo tempo em que se mantém a temperatura entre 10° C a 15° C. A mistura de reação foi permitida aquecer a temperatura ambiente e agitada por 8,0 horas sob N<sub>2</sub>. A mistura de reação foi resfriada com água (30 mL) e a camada orgânica separada. A camada aquosa foi extraída com tolueno (20 mL) e a camada orgânica combinada lavada com água (50 mL x 2), salmoura(15%, 30 mL) e seca sobre sulfato de sódio (20 gramas). A camada orgânica filtrada foi concentrada sob vácuo para se obter cloroformatode perilila como um óleo. Peso: 2.5 gramas; Rendimento:

89%.<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 1.5 (m, 1H), 1.7 (s, 3H), 1.8 (m, 1 H), 2,0 (m, 1 H), 2.2 (m, 4H), 4.7 (dd, 4H); 5.87 (m, 1H).

Butil lítio (2,5 M, 0,18 mL, 0,45 mmol) foi adicionado a uma solução de rolipram (GL Synthesis, Inc., 0,1 gramas, 0,36 mmol) em THF seco a -72 °C por um período de 5 minutos sob N<sub>2</sub>. Após, a mistura de reação foi agitada por 1,0 horas a -72 °C, cloroformato perilila (dissolvido em 4mL de THF) foi adicionado por um período de 15 minutos ao mesmo tempo em que se mantém a temperatura a -72 °C. A mistura de reação foi agitada por 2,5 horas e resfriada com cloreto de amônia saturada (5 mL). A mistura de reação foi permitida aquecer a temperatura ambiente e extraída com acetato de etila (2x15 mL). A camada orgânica combinada foi lavada com água (15 mL), salmoura (15%), 15 mL, e então seca sobre sulfato de sódio. A camada orgânica filtrada foi concentrada para se obter um óleo que foi purificado por cromatografia de coluna [dimensões da coluna: diâmetro: 1,5 cm, altura: 10 cm, sílica: 230-400 malha] e eluída com uma mistura de 8% acetato de etila/hexanos (100 mL) seguido por 12% acetato de etila/hexanos (100 mL). Frações de 12% de acetato de etila /hexanos foram combinadas e concentradas sob vácuo para produzir um sólido gomoso. Peso: 142 mg; Rendimento: 86%.<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): S .5 (m, 1 H), 1.6 (m, 2H), 1.7 (s, 3H), 1.9 (m, 6H), 2.2 (m, 5H), 2.7 (m, 1H), 2.9 (m, 1H), 3.5 (m, 1H), 3.7 (m, 1H), 3.8 (s, 3H), 4.2 (m, 1H), 4.7 (m, 6H), 5.8 (br s, 1H), 6.8 (m, 3H); MS, m/e: 452.1 (M<sup>+</sup> 53%), 274.1 (100%), 206.0 (55%).

Exemplo 6: Estudos de Citotoxicidade in vitro de Rolipram POH Carbamato (POH-Rolipram)

Para comparar a citotoxicidade de Rolipram POH Carbamato (POH-Rolipram) (por exemplo, sintetizado pelo método no Exemplo 5) com rolipram, um tipo de IV fosfodiesterase induzindo a diferenciação e apoptose em células de glioma, A 172, U87, U251 e LN229 células de glioma humano foram tratadas seja com POH-Rolipram ou rolipram por 48 horas. Os resultados do teste de MTT são mostrados nas figuras 5 a 8. POH-Rolipram exibiu coeficientes de extermínio substancialmente mais elevados comparado ao rolipram isoladamente para cada uma dos diversos tipos diferentes de células de glioma humano. A figura 5 mostrou teste de MTT para aumentar as concentrações de rolipram e POH-rolipram para as células A-172.

Rolipram isoladamente demonstrou uma IC<sub>50</sub> de aproximadamente 1000 uM (1 mM). Na presença de POH-rolipram, IC<sub>50</sub> é alcançada a concentrações tão baixas quanto 50 uM. A figura 6 mostrou teste de MTT para aumentar as concentrações de rolipram com células U-87. IC<sub>50</sub> não é alcançada a 1000 uM. Por outro lado, IC<sub>50</sub> é alcançada a 180 uM com POH-rolipram. A figura 7 mostra que a IC<sub>50</sub> para rolipram isoladamente para as células U251 é alcançada a 170 uM; o platô de citotoxicidade é alcançado a 60%. POH-rolipram alcança IC<sub>50</sub> a 50 uM, com quase 100% citotoxicidade at 100 uM. A figura 8 mostra que a

IC<sub>50</sub> para rolipram isoladamente para as células LN229 não é alcançada mesmo a 100 uM. Por outro lado, IC<sub>50</sub> para POH-rolipram é alcançada a 100 uM, com quase 100% de citotoxicidade a 10 uM.

Exemplo 7: Inibição do crescimento tumoral in vivo por derivados de ácido graxo de

## 5 POH

Inibição de crescimento tumoral por butiril-POH foi estudada em um modelo de glioma subcutâneo de rato nu. Os ratos foram injetados com células de glioma U-87 (500,000 células/injeção) e permitidos formar um nódulo palpável por duas semanas. Uma vez que o nódulo palpável foi formado, os ratos foram tratados com aplicação local de vários compostos como indicado nas figuras 9A e 9B via a Q-tip (1 cc/aplicação/dia) por um período de 8 semanas. A figura 9A mostra as imagens de gliomas U-87 subcutâneos em ratos nus tratados com butiril-POH, (S)-álcool perílico purificado tendo uma pureza maior que 98,5% ("POH purificado"), POH adquirida da Sigma Chemicals, ou solução salina tamponada a fosfato (PBS; controlenegativo). A figura 9B mostra crescimento tumoral médio com o tempo (período de tempo total de 60 dias). Butiril-POH demonstrou a maior inibição de crescimento tumoral, seguido por POH purificado e Sigma POH.

Exemplo 8: Estudos de Citotoxicidade in vitro de Temozolomida (TMZ) e Temozolomida POH Carbamato (POH-TMZ) em células sensíveis e resistentes a TMZ

Os testes de formação de colônia foram realizados após as células serem tratadas com TMZ isoladamente, POH isoladamente, e o conjugado TMZ-POH. Os testes de formação de colônia foram realizados como descrito em Chen TC, et al. Green tea epigallocatechin gallate enhances therapeutic efficacy of temozolomida in orthotopic mouse glioblastoma models. Cancer Lett. 2011 Mar 28;302(2): 100-8. A figura 10 mostra os resultados dos testes de formação de colônia realizado sem células sensíveis a TMZ (U251) e resistentes a TMZ (U251 TR) U251 com TMZ ou TMZ-POH. TMZ demonstrou citotoxicidade em relação a células U251 sensíveis a TMZ, mas tinha mínima citotoxicidade em relação a células U251 resistentes a TMZ. TMZ-POH demonstrou citotoxicidade em relação a ambas as células U251 sensíveis a TMZ e resistentes a TMZ.

A figura 11 mostra os resultados dos testes de formação de colônia realizado sem TMZ sensível (U251) sensíveis a TMZ e células (U251 TR) resistentes a TMZ U251 com POH. POH demonstrou citotoxicidade em relação a ambas as células U251 sensíveis a TMZ e resistentes a TMZ. POH-TMZ (figura 10) exibiu substancialmente maior potência comparada a POH isoladamente (figura 11) nos testes de formação de colônia.

Exemplo 9: Estudos de Citotoxicidade in vitro de Temozolomida POH Carbamato (POH-TMZ) em células U251, células U251 TR, e Astrócitos normais.

Testes de citotoxicidade MTT foram realizados e após as células foram tratadas com o TMZ-POH conjugado. Os testes de citotoxicidade MTT foram realizados como des-

crito em Chen TC, et al. Green tea epigallocatechin gallate enhances therapeutic efficacy of temozolomida in orthotopic mouse glioblastoma models. Cancer Lett. 2011 Mar 28;302(2): 100-8. A figura 12 mostra os resultados dos testes de citotoxicidade de MTT realizado sem células (U251) sensíveis a TMZ, células (U251TR) resistentes a TMZ e astrócitos normais.

- 5 TMZ-POH demonstrou citotoxicidade em relação a ambas as células U251 sensíveis a TMZ e resistentes a TMZ, mas não em relação a astrócitos normais.

Exemplo 10: Estudos de Citotoxicidade in vitro de Temozolomida POH Carbamato (POH-TMZ) em BEC, tuBEC, e Astrócitos normais.

Testes de citotoxicidade tuBEC foram realizados e após as células foram tratadas com the TMZ-POH conjugado. Os testes de citotoxicidade MTT foram realizados como descrito em Chen TC, et al. Green tea epigallocatechin gallate enhances therapeutic efficacy of temozolomida em orthotopic mouse glioblastoma models. Cancer Lett. 2011 Mar 28;302(2): 100-8. A figura 13 mostra os resultados dos testes de citotoxicidade de MTT realizado sem astrócitos normais, células endoteliais cerebrais (BEC; confluente e subconfluente), e células tumorais endoteliais cerebrais (TuBEC). TMZ-POH não induziram significante citotoxicidade em astrócitos normais, confluente BEC, ou tuBEC. Citotoxicidade suave a moderada foi demonstrada em BEC subconfluente em altas concentrações de TMZ-POH.

Exemplo 11: Estudos de Citotoxicidade in vitro de Temozolomida (TMZ) e Temozolomida POH Carbamato (POH-TMZ) em células tronco de câncer de glioma USC-04.

20 Testes de citotoxicidade MTT foram realizados e após as células foram tratadas com o TMZ isoladamente, POH isoladamente, ou o TMZ-POH conjugado. Os testes de citotoxicidade MTT foram realizados como descrito em Chen TC, et al. Green tea epigallocatechin gallate enhances therapeutic efficacy de temozolomida em orthotopic mouse glioblastoma models. Cancer Lett. 2011 Mar 28;302(2): 100-8. A figura 14 mostra os resultados dos testes de citotoxicidade de MTT realizados em células tronco de câncer de glioma USC-04. 25 TMZ não induziu significante citotoxicidade com crescentes concentrações (0-400 uM). TMZ-POH demonstrou evidência de citotoxicidade com IC<sub>50</sub> a 150 uM. A figura 15 mostra os resultados dos testes de citotoxicidade de MTT realizados em células tronco de câncer de glioma USC-04 tratadas com POH. POH demonstrou citotoxicidade em USC-04 com 30 crescentes concentrações (0-2 mM).

Exemplo 12: Estudos de Citotoxicidade in vitro de Temozolomida (TMZ) e Temozolomida POH Carbamato (POH-TMZ) em células tronco de câncer de glioma USC-02.

Testes de citotoxicidade MTT foram realizados e após as células foram tratadas com o TMZ isoladamente, POH isoladamente, ou the TMZ-POH conjugado. Os testes de citotoxicidade MTT foram realizados como descrito em Chen TC, et al. Green tea epigallocatechin gallate enhances therapeutic efficacy of temozolomida in orthotopic mouse glioblastoma models. Cancer Lett. 2011 Mar 28;302(2): 100-8. A figura 16 mostra os resultados dos

testes de citotoxicidade de MTT realizado sem células tronco de câncer de glioma USC-02. TMZ não induziu significante citotoxicidade com crescentes concentrações (0-400 uM). TMZ-POH demonstrou evidencia de citotoxicidade com IC<sub>50</sub> a 60 uM. A figura 17 mostra os resultados dos testes de citotoxicidade de MTT realizados em células tronco de câncer de glioma USC-02 tratadas com POH. POH demonstrou citotoxicidade no USC-02 com crescentes concentrações (0-2 mM).

Exemplo 13: Estudos in vitro de tensão ER por Temozolomida POH Carbamato (POH-TMZ) em células de glioma sensíveis e resistentes a TMZ

Western blots foram realizados após células de glioma sensíveis e resistentes a TMZ serem tratadas com the TMZ-POH conjugado por 18 hr. A figura 18 mostra um western blot demonstrando que TMZ-POH induz tensão ER (ERS) em células U251 de glioma sensíveis e resistentes a TMZ.

A ativação da proteína pró-apoptótica CHOP foi mostrada em concentrações tão baixas quanto 60 uM de TMZ-POH.

O âmbito da presente invenção não é limitado ao que foi especificamente mostrado e descrito aqui acima. Aqueles versados na técnica reconhecerão que há alternativas adequadas para os exemplos ilustrados de materiais, configurações, construções e dimensões. Numerosas referências, incluindo patentes e várias publicações, são citadas e discutidas na descrição da presente invenção. A citação e discussão das referidas referências é proporcionada meramente para esclarecer a descrição da presente invenção e não é uma admissão de que qualquer referencia seja a técnica anterior da presente invenção descrita aqui. Todas as referências citadas e discutidas na presente especificação são incorporadas aqui por referência em sua totalidade. Variações, modificações e outras implementações do que é descrito aqui ocorrerão para aqueles versados na técnica sem se desviar do espírito e âmbito da presente invenção. Embora determinadas modalidades da presente invenção tenham sido mostradas e descritas, será óbvio para aqueles versados na técnica que mudanças e modificações podem ser produzidas sem se desviar do espírito e âmbito da presente invenção. O assunto determinado na descrição anterior e nos desenhos anexos é oferecido apenas como ilustração e não como uma limitação.

## REIVINDICAÇÕES

1. Composição farmacêutica **CARACTERIZADA** pelo fato de que compreende um carbamato de álcool perílico conjugado com um agente quimioterápico.
2. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADA** 5 pelo fato de que o agente quimioterápico é selecionado a partir do grupo que consiste em um agente de alquilação de DNA, um inibidor de topoisomerase, um agente de indução de tensão de retículo endoplasmático, um composto de platina, um antimetabólito, um inibidor de enzima, e um antagonista receptor.
3. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADA** 10 pelo fato de que a composição farmacêutica é adequada para ser administrada antes, durante ou após uma terapia de radiação.
4. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADA** pelo fato de que a composição farmacêutica é adequada para ser administrada antes, durante ou após a administração de um agente quimioterápico.
5. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADA** 15 pelo fato de que a composição farmacêutica é adequada para ser administrada por inalação, por via intranasal, por via oral, por via intravenosa, por via subcutânea ou por via intramuscular.
6. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADA** 20 pelo fato de que o carbamato de álcool perílico é 4-(Bis-N,N'-4-isopropenil ciclohex-1-enilmetíloxi carbonil [5-(2,5-dimetil fenil)-3-trifluorometil pirazol-1-il] benzenossulfonamida.
7. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADA** pelo fato de que o carbamato de álcool perílico é éster 4-isopropenil ciclohex-1-enilmetílico de ácido 4-(3-ciclopentiloxi-4-metoxi fenil)-2-oxo-pirrolidino-1-carboxílico.
8. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADA** 25 pelo fato de que o carbamato de álcool perílico é éster 4-isopropenil ciclohex-1-enilmetílico de ácido 3-metil 4-oxo-3,4-diidroimidazo[5,1-d][1,2,3,5]tetrazino-8-carbonil)-carbâmico.
9. Uso de uma quantidade terapeuticamente eficaz de um carbamato de álcool perílico conjugado com um agente quimioterápico **CARACTERIZADO** pelo fato de que é na fabricação de um medicamento para tratar um câncer, um tumor do sistema nervoso, ou um glioblastoma em um mamífero.
10. Uso, de acordo com a reivindicação 9, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o medicamento é adequado para combinação com uma terapia de radiação.
11. Uso, de acordo com a reivindicação 9, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o medicamento é adequado para combinação com um agente quimioterápico.
12. Uso, de acordo com a reivindicação 9, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o medicamento é adequado para administrado por inalação, por via intranasal, por via oral, por

via intravenosa, por via subcutânea ou por via intramuscular.

13. Uso, de acordo com a reivindicação 9, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o agente quimioterápico é selecionado a partir do grupo que consiste em um agente de alquilização de DNA, um inibidor de topoisomerase, um agente de indução de tensão de retículo endoplasmático, um composto de platina, um antimetabólito, um inibidor de enzima e um antagonista receptor.

14. Uso, de acordo com a reivindicação 9, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o carbamato de álcool perílico é selecionado a partir do grupo que consiste em (a) 4-(bis-N,N'-4-isopropenil ciclohex-1-enilmethoxi carbonil [5-(2,5-dimetil fenil)-3-trifluorometil pirazol-1-il] benzenossulfonamida; (b) éster 4-isopropenil ciclohex-1-enilmétílico de ácido 4-(3-ciclopentenoxi-4-metoxi fenil)-2-oxo-pirrolidina-1-carboxílico; e (c) éster 4-isopropenil ciclohex-1-enilmétílico de ácido 3-metil 4-oxo-3,4-diidroimidazo[5,1-d][1,2,3,5]tetrazino-8-carbonil)-carbâmico.

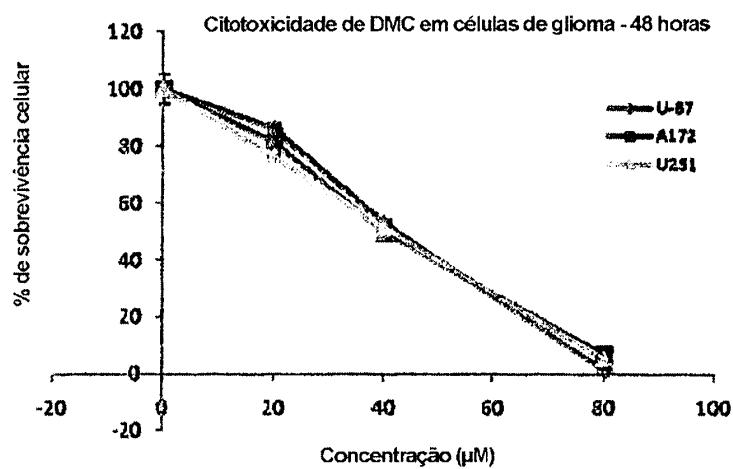


Figura 1

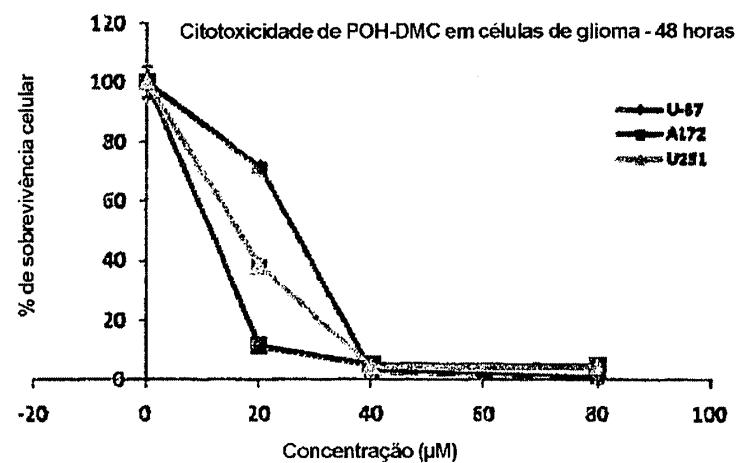


Figura 2

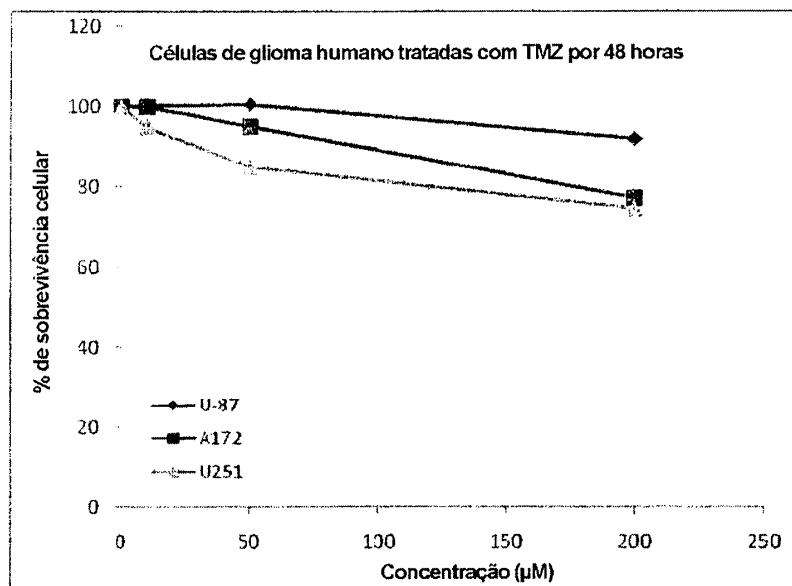


Figura 3

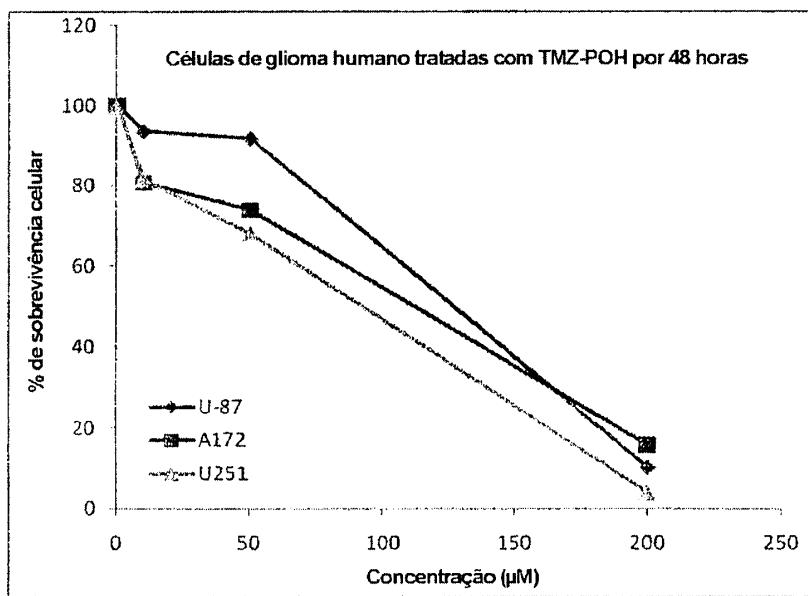


Figura 4

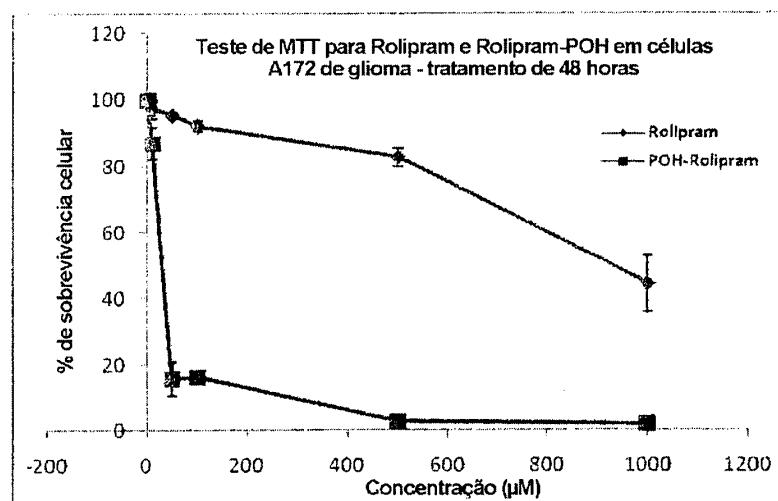


Figura 5

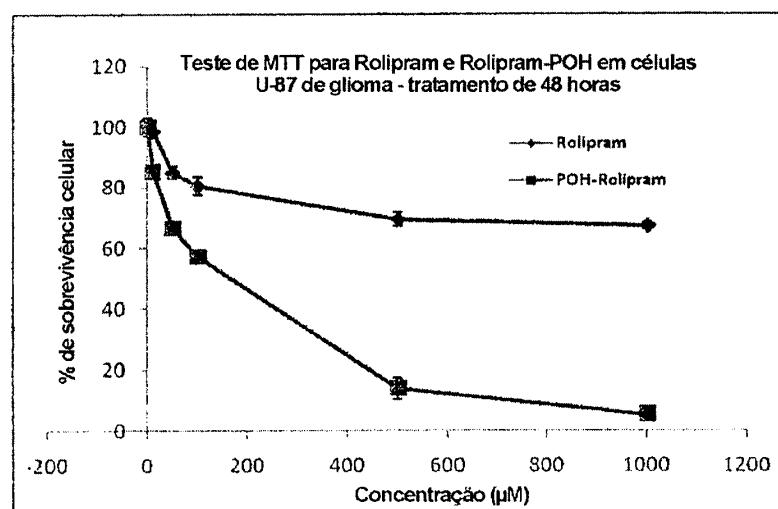
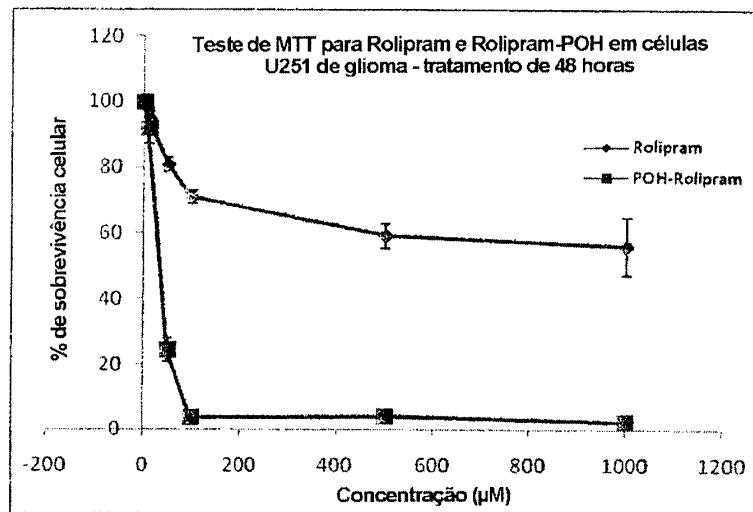
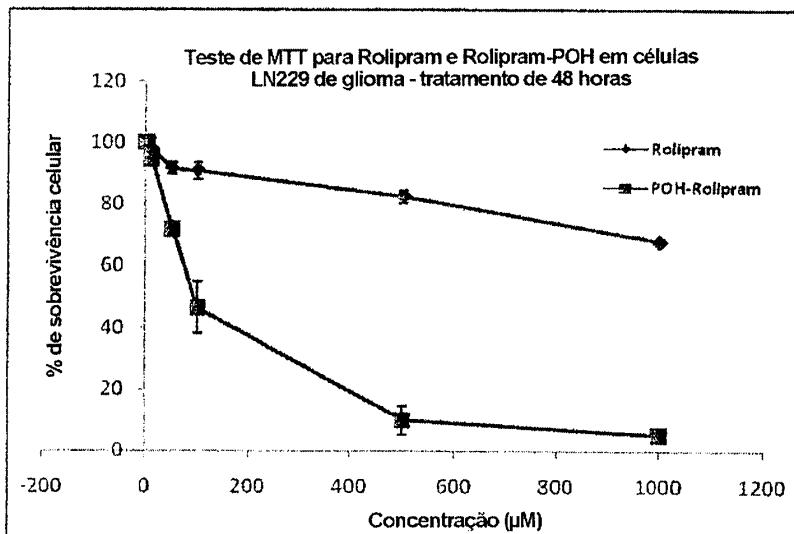


Figura 6



**Figura 7**



**Figura 8**

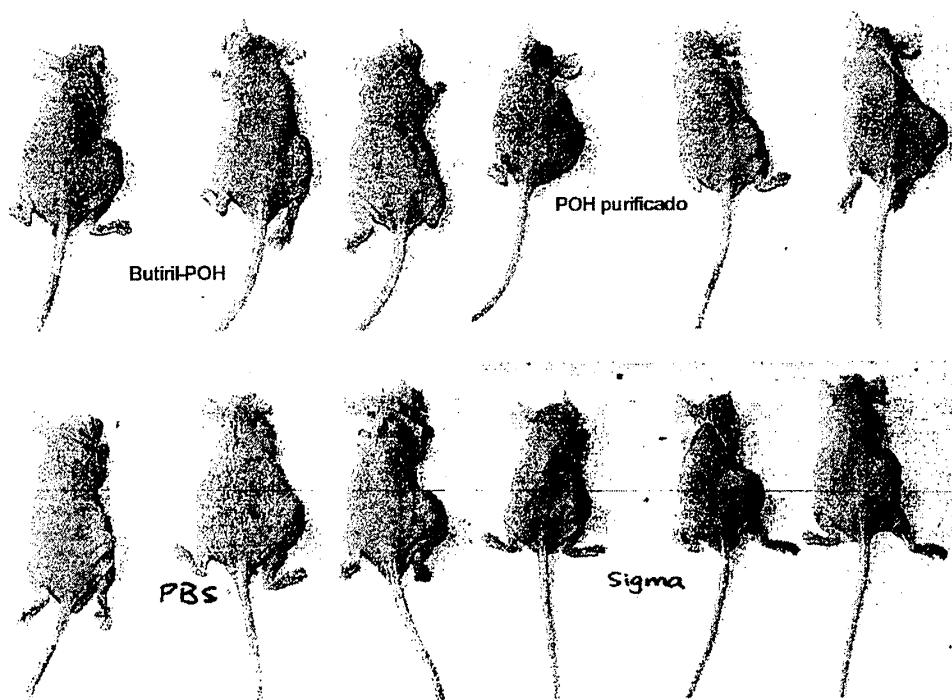
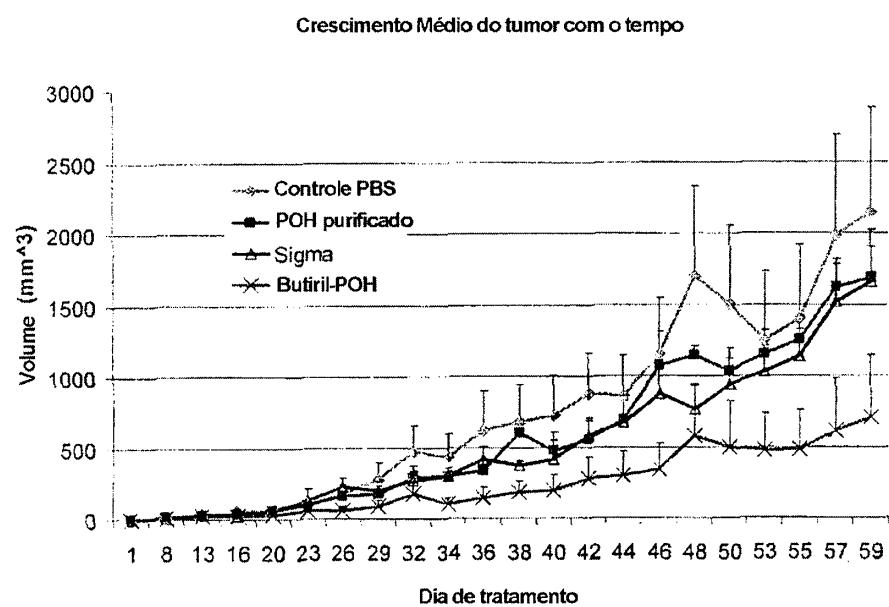
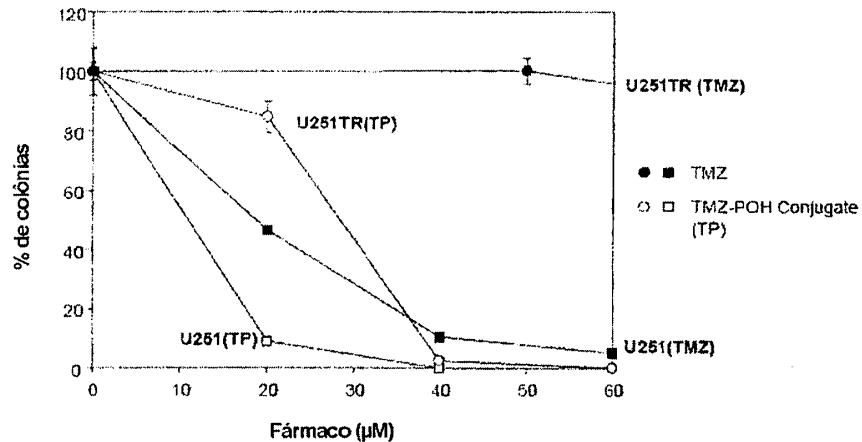


Figura 9A



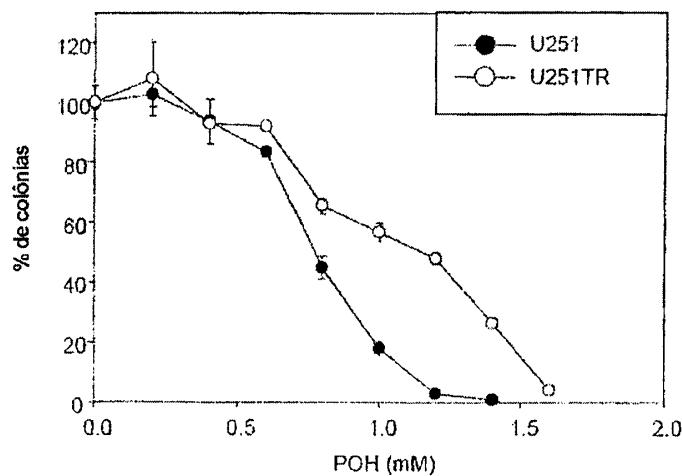
**Figura 9B**

**Teste de formação de colônia para células de glioma sensíveis e resistentes a TMZ em TMZ e TMZ-POH - 72 horas de tratamento**

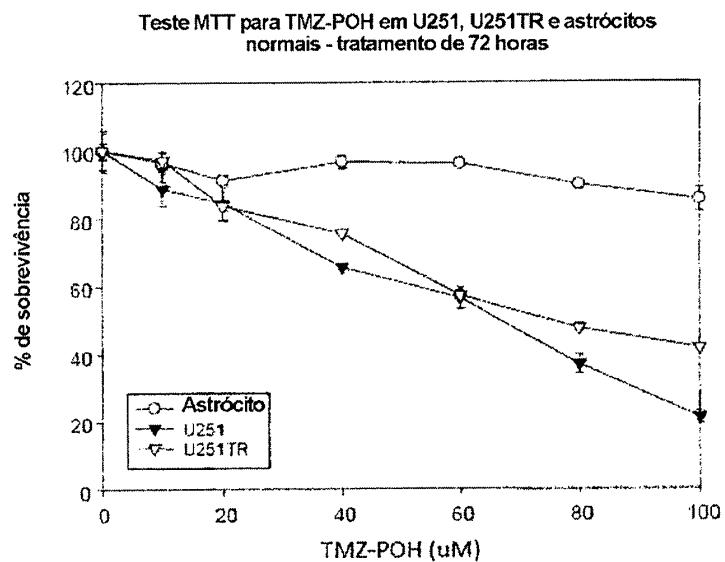
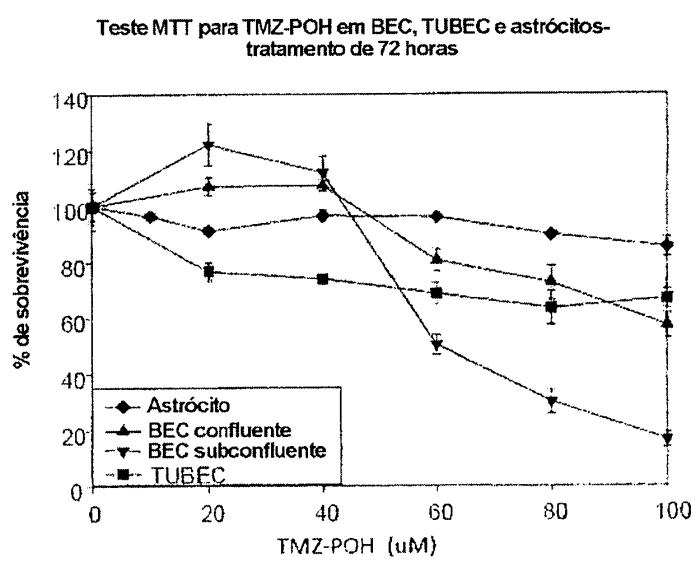


**Figura 10**

**CFA de U251 e U251TR com POH - tratamento de 72 horas**



**Figura 11**

**Figura 12****Figura 13**

Teste MTT para TMZ-POH em célula tronco de câncer de glioma USC-04 -  
72 horas de tratamento

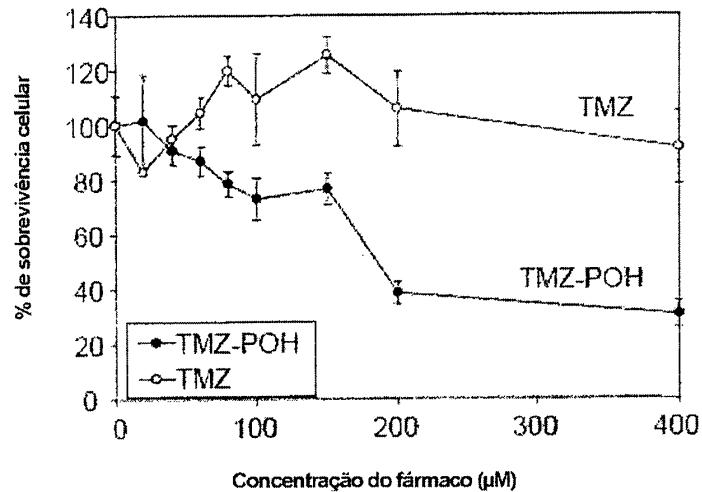


Figura 14

Teste MTT para POH em célula tronco de câncer de glioma  
USC-04 - 72 horas de tratamento

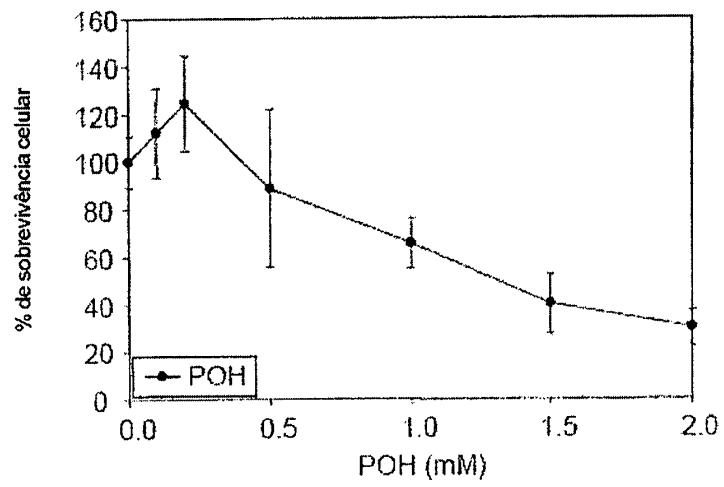


Figura 15

Teste MTT para TMZ-POH em célula tronco de câncer de glioma USC-02 -  
72 horas de tratamento

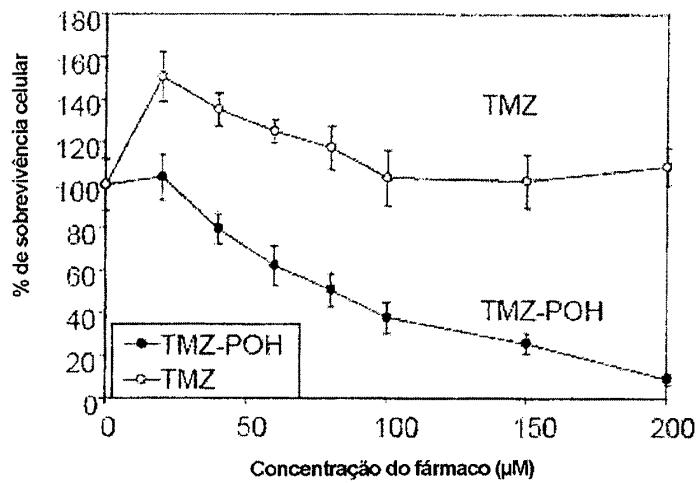


Figura 16

Teste MTT para POH em célula tronco de câncer de glioma USC-02 -  
72 horas de tratamento

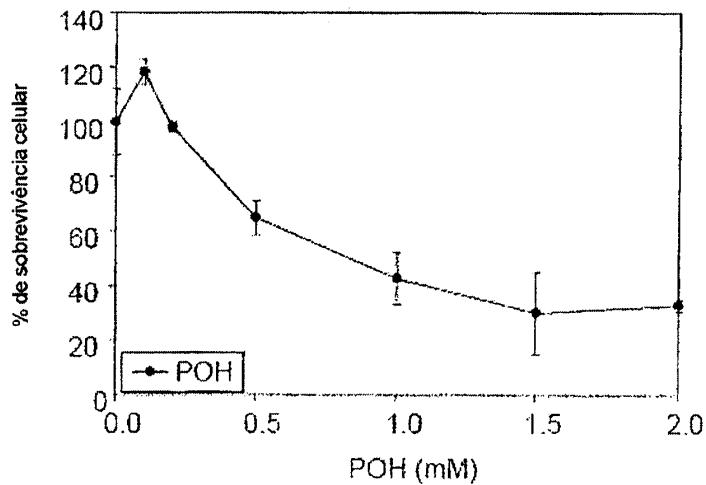
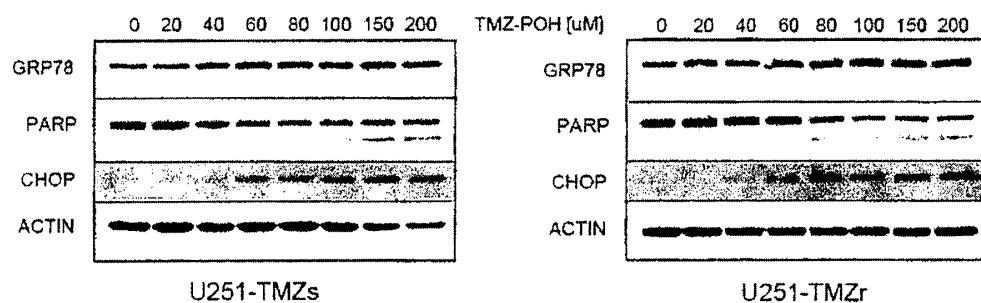


Figura 17

**Western Blot em seguida do tratamento de TMZ-POH de células U251-TMZs e U251-TMZh - 18 horas de tratamento**



**Figura 18**