

(12) PEDIDO INTERNACIONAL PUBLICADO SOB O TRATADO DE COOPERAÇÃO EM MATÉRIA DE PATENTES (PCT)

(19) Organização Mundial da Propriedade Intelectual
Secretaria Internacional



(10) Número de Publicação Internacional
WO 2010/142007 A1

(43) Data de Publicação Internacional
16 de Dezembro de 2010 (16.12.2010)

PCT

- (51) **Classificação Internacional de Patentes :**
A61K 31/121 (2006.01) *A61K 31/675* (2006.01)
A61K 31/337 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
A61K 31/7048 (2006.01)
- (21) **Número do Pedido Internacional :**
PCT/BR2009/000375
- (22) **Data do Depósito Internacional :**
11 de Novembro de 2009 (11.11.2009)
- (25) **Língua de Depósito Internacional :** Português
- (26) **Língua de Publicação :** Português
- (30) **Dados Relativos à Prioridade :**
PI 0902039-0 9 de Junho de 2009 (09.06.2009) BR
- (71) **Requerentes (para todos os Estados designados, exceto US) :** UNIVERSIDADE BANDEIRANTE DE SÃO PAULO - ACADEMIA PAULISTA ANCHIETA S/C LTDA [BR/BR]; Rua Maria Cândida, 1813, Vila Guilherme, 02071-013 São Paulo (BR). FUNDAÇÃO DE AMPARO À PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO - FAPESP [BR/BR]; Rua Pio XI 1500, Alto da Lapa, 05468-901 São Paulo (BR).
- (72) **Inventores; e**
- (71) **Requerentes :** JOSÉ AGUSTIN, Quincoces suárez [BR/BR]; Rua Barão de Tatuí, 427, apt. 41, Santa Cecília, 01226-030 São Paulo (BR). DURVANEI AUGUSTO, Maria [BR/BR]; Rua Antônio Ciucio, 106, Tatuapé, 03320-020 São Paulo (BR). PAULO CELSO, Pardi [BR/BR]; Rua Bahia, 408, apt.32, Ed. Radimar, Praia Grande, 11700-280 São Paulo (BR). FERNANDA, Faião Flores [BR/BR]; Rua Santana do Riacho, 420, IV Centenário, 03932-000 São Paulo (BR). REGINALDO, Pereira Santos [BR/BR]; Rua Cabo José Vieira da Silva, 365, JD. Sapopemba, 03929-120 São Paulo (BR). DANIELA, Gonçalves Rando [BR/BR]; Rua Afonso Celso, 718, apt.144, Saúde, 04119-060 São Paulo (BR).
- (74) **Mandatários :** GABRIEL, Di Blasi et al.; Rua do Ouvidor, nº 121, 11º andar, Centro, 20040-030 Rio de Janeiro (BR).
- (81) **Estados Designados (sem indicação contrária, para todos os tipos de proteção nacional existentes) :** AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA,

(Continua na página seguinte)

(54) **Title :** PHARMACEUTICAL COMPOSITION AND USE OF THE PHARMACEUTICAL COMPOSITION FOR THE TREATMENT, PROPHYLAXIS OR PREVENTION OF NEOPLASTIC DISEASES IN HUMANS AND ANIMALS

(54) **Título :** COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA E USO DE COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA PARA O TRATAMENTO, PROFILAXIA OU PREVENÇÃO DE DOENÇAS NEOPLÁSICAS EM HUMANOS E ANIMAIS



FIGURA 27

(57) **Abstract :** The present invention relates to pharmaceutical compositions that comprise polyfunctional metal phenolates with biological uses as auxiliary anti-tumoral and cytoprotective agents, as anti-metastatic and anti-mutagenic agents when associated with chemotherapy agents. The present invention further relates to the use of polyfunctional metal phenolates for preparing medicaments for the treatment, prophylaxis or prevention of neoplastic diseases in humans and animals.

(57) **Resumo :** A presente invenção refere-se a composições farmacêuticas que compreendem fenolatos metálicos polifuncionais que apresentam aplicações biológicas como adjuvantes antitumorais, citoprotetores, agentes antimetastáticos e agentes antimutagênicos quando associados a quimioterápicos. A presente invenção refere-se ainda ao uso fenolatos metálicos polifuncionais na preparação de medicamentos para o tratamento, profilaxia ou prevenção de doenças neoplásicas em humanos e animais.

WO 2010/142007 A1

NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU,
SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN,
TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN,
GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(84) Estados Designados (*sem indicação contrária, para todos os tipos de proteção regional existentes*): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasiático (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), Europeu (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI,

Declarações sob a Regra 4.17 :

— *relativa à autoria da invenção (Regra 4.17(iv))*

Publicado:

— *com relatório de pesquisa internacional (Art. 21(3))*

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para:
"COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA E USO DE COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA
PARA O TRATAMENTO, PROFILAXIA OU PREVENÇÃO DE DOENÇAS
NEOPLÁSICAS EM HUMANOS E ANIMAIS".

5 CAMPO DA INVENÇÃO

A presente invenção refere-se à fenolatos metálicos polifuncionais, suas aplicações biológicas como citoprotetores e /ou adjuvantes potencializadores de
10 antitumorais comerciais, como adjuvantes protetores e estimulantes da medula óssea e como agentes preventivos de surgimento de tumores. Estes compostos apresentam propriedades antimetastáticas e antimutagênicas quando associados a quimioterápicos comerciais, diminuindo a
15 toxicidade dos mesmos.

Especificamente, a presente invenção refere-se a composições farmacêuticas que compreendem fenolatos metálicos polifuncionais que apresentam aplicações biológicas como adjuvantes antitumorais, citoprotetores,
20 agentes antimetastáticos e agentes antimutagênicos quando associados a quimioterápicos.

A presente invenção refere-se ainda ao uso fenolatos metálicos polifuncionais na preparação de medicamentos para o tratamento, profilaxia ou prevenção de doenças

neoplásicas em humanos e animais.

FUNDAMENTOS DA INVENÇÃO

O câncer ou neoplasia maligna, é uma doença caracterizada por uma população de células que cresce e se divide ilimitadamente, invadindo e destruindo vários tecidos em um processo chamado metástase. O câncer é geralmente classificado de acordo com o tecido de qual as células cancerígenas se originaram, assim como o tipo normal de célula com que mais se parecem.

Quase todos os cânceres são causados por anomalias genéticas. Estas anomalias podem ser causadas agentes carcinogênicos (ex. como o tabagismo, radiação, substâncias químicas ou agentes infecciosos) ou podem ser herdadas, e conseqüentemente estão presentes em todas as células desde o nascimento. As anomalias genéticas encontradas no câncer afetam tipicamente duas classes gerais de genes. Os genes promotores de câncer, oncogenes, estão geralmente ativados nas células cancerígenas, fornecendo a estas células novas propriedades, como o crescimento e divisão hiperativa, proteção contra morte celular programada, perda do respeito aos limites teciduais normais e a habilidade de se tornarem estáveis em diversos tecidos. Além disso, os genes supressores de tumor estão geralmente inativados nas células cancerígenas, resultando na perda das funções

normais destas células, como uma replicação de DNA acurada, controle sobre o ciclo celular, orientação e adesão nos tecidos e interação com as células protetoras do sistema imune.

5 Uma vez diagnosticado, o câncer geralmente é tratado com uma combinação de cirurgia, quimioterapia e radioterapia.

A maioria das drogas utilizadas na quimioterapia antineoplásica interfere de algum modo no ciclo celular e, portanto são usualmente classificadas conforme a sua atuação sobre o ciclo celular: a) quimio ciclo-inespecíficas - atuam nas células que estão ou não no ciclo proliferativo, como, por exemplo, a mostarda nitrogenada; b) ciclo-específicas - atuam somente nas células que se encontram em proliferação, como é o caso da ciclofosfamida; e, c) fase-específicas - atuam em determinadas fases do ciclo celular, como, por exemplo, o metotrexato (fase S), placitaxel (fase M), o etoposídeo (fase G2) e a vincristina (fase M).

20 A quimioterapia pode ser feita com a aplicação de um ou mais quimioterápicos. O uso de drogas isoladas (monoquimioterapia) mostrou-se ineficaz em induzir respostas completas ou parciais significativas, na maioria dos tumores, sendo atualmente de uso muito restrito. A

poliquimioterapia é de eficácia comprovada e tem como objetivos atingir populações celulares em diferentes fases do ciclo celular, utilizar a ação sinérgica das drogas, diminuir o desenvolvimento de resistência às drogas e
5 promover maior resposta por dose administrada.

As drogas utilizadas na quimioterapia antineoplásica afetam tanto as células normais como as neoplásicas. Por este motivo, a grande maioria dos tratamentos com os quimioterápicos convencionais em mono ou poliquimioterapia
10 está associada a uma variedade de efeitos colaterais indesejáveis destes compostos, tais como anemias, imunossupressão severa, alopecia, hepatotoxicidade, danos gastrointestinais moderados e neuropatia periférica.

A maioria das substâncias utilizadas no tratamento do
15 câncer é capaz de lesar o DNA, provocando a morte das células tumorais. Além de atingirem as células-alvo, estas substâncias também podem ser absorvidas por células normais, podendo provocar a ocorrência de mutações e de efeitos genotóxicos, levando ao aparecimento de tumores
20 secundários. Assim, ao avaliar o potencial clastogênico das substâncias químicas utilizadas na quimioterapia, procura-se aplicar protocolos de tratamento e/ou outras drogas que possam minimizar os efeitos dos agentes utilizados.

Drogas antineoplásicas como a ciclofosfamida,

paclitaxel e etoposídeo, são usadas na terapia antitumoral, mas possuem grande capacidade de causar mutagenicidade em células da medula óssea, bem como danos no DNA, de pacientes que fazem uso deste medicamento de forma individual ou em associação (Mazu et al., *Mutat. Res.*, 309(2): pp.219-213, 1994; Shukia, Y. *Human and exp. Toxicol.*, 23(5):245-250, 2004; Branhan, M. T. *Mutat. Res.*, 560(1):11-17, 2004; Huang, R. *CA Cancer J. Clin.*, 59:42-55, 2009). Assim, a diminuição da ação mutagênica de antitumorais como o paclitaxel, ciclofosfamida e etoposídeo é exercida pela associação de algumas drogas tais como dexrazoxane, amifostine e mesna.

No entanto, estas drogas co-adjuvantes apresentam importantes desvantagens. A dexrazoxane diminui a ação tóxica do etoposídeo, porém apresenta efeitos colaterais significativos e índices de dano celular superiores a 45% [Attia et al. *Cancer Chem. Pharmacol.*, 2009 (Epub ahead of print)]. A amifostine apresenta diminuição da toxicidade quando em associação com a cisplatina ou com paclitaxel (Marcu LG. *Eur. J. Cancer Care (Engl)*, 18(2):116-123, 2009), porém apresenta 50 a 60% de danos celulares. O mesna, em associação com o paclitaxel, apresenta ação antimutagênica moderada e a presença de efeitos colaterais indesejáveis (Souza et al., *Rev. Bras. Hemat. Hemot.*,

22(2):123-128, 2000; Chen et al., Cancer Gen. Ther.,
14(12):935-944, 2007; Vilar et al., Braz. J. Biol.,
68(1):141-147, 2008).

Em vista do exposto, é desejável que se desenvolvam
5 componentes adjuvantes para diminuir os efeitos colaterais
e aumentar a toxicidade para as células tumorais de agentes
quimioterápicos.

Sais metálicos do composto 1,5-bis(4-hidroxi-3-
metoxifenil)penta-1,4-dien-3-ona, tais como 4-[5-(4-
10 hidroxi-3-metoxi-fenil)-3-oxo-penta-1,4-dienil]-2-
metoxifenolato de sódio (fenolato metálico), foram obtidos
por J. Quincoces e colaboradores (documentos de patente
PI0602640-0 e PCT/BR2007/000175), e mostraram atividade
antiproliferativa significativa em linhagens de células
15 tumorais. Além disso, estes compostos foram também capazes
de inibir a formação de metástases (Faião-Flores et al.,
Applied Cancer Res., 28(2):72-79, 2008). Porém, até ao
presente momento não foi descritos na literatura que estes
compostos apresentam ação adjuvante potencializadora,
20 antimetastática, citoprotetora e antimutagênica quando
associados a outras drogas antitumorais.

OBJETIVOS DA INVENÇÃO

A presente invenção tem por objetivo o uso de
fenolatos metálicos polifuncionais como adjuvantes em

associação com drogas antitumorais de forma a potencializar os seus efeitos antitumorais além de prevenir efeitos colaterais sobre a medula óssea e o sistema imunohematológico.

5 Constitui um outro objetivo da presente invenção o uso de fenolatos metálicos polifuncionais em associação com drogas antitumorais para a prevenção do surgimento de tumores e inibição da migração das células tumorais para outros tecidos e órgãos (metástases).

10 Constitui outro objetivo da presente invenção o uso de fenolatos metálicos polifuncionais em associação com drogas antitumorais como agentes antimutagênicos de medicamentos antineoplásicos convencionais que causam mutagênese.

15 Mais especificamente constituem objetivos da presente invenção prover composições farmacêuticas que compreendem fenolatos metálicos polifuncionais em associação com uma ou mais drogas antitumorais, e um ou mais dentre um veículo, excipiente, diluente ou solvente fisiologicamente aceitáveis.

20 Constitui ainda um outro objetivo da presente invenção o uso de fenolatos metálicos polifuncionais para a preparação de medicamentos para o tratamento, profilaxia ou prevenção de doenças neoplásicas em humanos e animais.

DEFINIÇÕES

Para facilitar a leitura do documento, no âmbito deste pedido de patente é utilizada por diversas a abreviatura DM-1. Esta abreviatura refere-se ao composto 4-[5-(4-hidroxi-3-metoxi-fenil)-3-oxo-penta-1,4-dienil]-2-metoxi-
5 fenolato de sódio.

DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

As figuras a seguir fazem parte do presente relatório e foram incluídas a fim de ilustrar determinados aspectos da invenção. O objeto da presente invenção pode ser mais
10 bem entendido com referência a uma ou mais dessas figuras, em combinação com a descrição detalhada da modalidade preferida aqui apresentada.

A Figura 1 mostra a variação da área tumoral de adenocarcinoma mamário em camundongos tratados com
15 paclitaxel, etoposídeo, placitaxel em associação com DM1 e etoposídeo em associação com DM1 quando comparados ao grupo controle (sem tratamento).

A Figura 2 mostra a taxa de sobrevivência dos grupos de camundongos portadores de adenocarcinoma mamário tratados
20 com paclitaxel, etoposídeo, placitaxel em associação com DM1 e etoposídeo em associação com DM1 quando comparados ao grupo controle (sem tratamento).

A Figura 3 mostra o número de metástases renais e esplênicas nos grupos de camundongos portadores de

adenocarcinoma mamário tratados com paclitaxel, etoposídeo, placitaxel em associação com DM1 e etoposídeo em associação com DM1 quando comparados ao grupo controle (sem tratamento).

5 A Figura 4 mostra a variação do volume esplênico em camundongos portadores de adenocarcinoma mamário tratados paclitaxel, etoposídeo, placitaxel em associação com DM1 e etoposídeo em associação com DM1 quando comparados ao grupo controle (sem tratamento).

10 A Figura 5 mostra a variação da área tumoral de melanoma B16F10 em camundongos tratados com o composto DM-1 (pré tratados e pré e pós tratados com DM-1) quando comparados ao grupo controle (sem tratamento).

A Figura 6 mostra a variação da área tumoral de
15 melanoma B16F10 em camundongos tratados com paclitaxel e com placitaxel em associação com DM1 quando comparados ao grupo controle (sem tratamento).

A Figura 7 mostra a taxa de sobrevivência dos grupos de
20 camundongos portadores de melanoma B16F10 tratados com o composto DM-1 (pré tratados e pré e pós tratados com DM-1) quando comparados ao grupo controle (sem tratamento).

A Figura 8 mostra a taxa de sobrevivência dos grupos de camundongos portadores de melanoma B16F10 tratados com paclitaxel e com placitaxel em associação com DM1 quando

comparados ao grupo controle (sem tratamento).

A Figura 9 mostra a distribuição e localização das metástases em órgãos internos em camundongos portadores de melanoma B16F10 com o composto DM-1 (pré tratados e pré e
5 pós tratados com DM-1) quando comparados ao grupo controle (sem tratamento).

A Figura 10 mostra a distribuição e localização das metástases em órgãos internos em camundongos portadores de melanoma B16F10 tratados com paclitaxel e com placitaxel em
10 associação com DM1 quando comparados ao grupo controle (sem tratamento).

A Figura 11 mostra a avaliação do número total eritrócitos dos animais normais e com tumor melanoma B16F10 dos grupos de animais pré tratados com o composto DM-1 e
15 pré e pós tratados com DM-1 nos dias 6° e 14° anteriores ao implante (1A e 2A) e no 2°, 6° e 10° dias após o início do tratamento (1B, 2B e 3B) comparados ao grupo controle.

A Figura 12 mostra a avaliação do número total eritrócitos dos animais normais e com tumor melanoma B16F10
20 dos grupos de animais pré tratados com paclitaxel e com placitaxel em associação com DM1 no 2°, 6° e 10° dias após o início do tratamento (1B, 2B e 3B) comparados ao grupo controle.

A Figura 13 mostra a avaliação do número total

leucócitos dos animais normais e com tumor melanoma B16F10 dos grupos de animais pré tratados com o composto DM-1 e pré e pós tratados com DM-1 nos dias 6° e 14° anteriores ao implante (1A e 2A) e no 2°, 6° e 10° dias após o início do
5 tratamento (1B, 2B e 3B) comparados ao grupo controle.

A Figura 14 mostra a avaliação do número total leucócitos dos animais normais e com tumor melanoma B16F10 dos grupos de animais pré tratados com paclitaxel e com placitaxel em associação com DM1 no 2°, 6° e 10° dias após o
10 início do tratamento (1B, 2B e 3B) comparados ao grupo controle.

A Figura 15 mostra a avaliação do número total plaquetas dos animais normais e com tumor melanoma B16F10 dos grupos de animais pré tratados com o composto DM-1 e pré e pós tratados com DM-1 nos dias 6° e 14° anteriores ao
15 implante (1A e 2A) e no 2°, 6° e 10° dias após o início do tratamento (1B, 2B e 3B) comparados ao grupo controle.

A Figura 16 mostra a avaliação do número total plaquetas dos animais normais e com tumor melanoma B16F10 dos grupos de animais pré tratados com paclitaxel e com
20 placitaxel em associação com DM1 no 2°, 6° e 10° dias após o início do tratamento (1B, 2B e 3B) comparados ao grupo controle.

A Figura 17 mostra a análise da distribuição das

células tumorais B16F10 dos tumores dorsais do grupo controle nas diferentes fases do ciclo celular.

A Figura 18 mostra a análise da distribuição das células tumorais B16F10 dos tumores dorsais do grupo pré tratado com DM-1 nas diferentes fases do ciclo celular.

A Figura 19 mostra a análise da distribuição das células tumorais B16F10 dos tumores dorsais do grupo pré e pós tratado DM-1 nas diferentes fases do ciclo celular.

A Figura 20 mostra a análise da distribuição das células tumorais B16F10 dos tumores dorsais do grupo tratado com paclitaxel nas diferentes fases do ciclo celular.

A Figura 21 mostra a análise da distribuição das células tumorais B16F10 dos tumores dorsais do grupo tratado com paclitaxel em associação com DM-1 nas diferentes fases do ciclo celular.

A Figura 22 mostra os aspectos gerais da morfologia do eritroblasto do grupo controle negativo. Coloração de Giemsa em aumento de 400x.

A Figura 23 mostra o eritroblasto policromático em esfregaço de medula óssea após a administração de 140µM/kg de DM-1, por via intraperitoneal. Coloração de Giemsa em aumento de 400x.

A Figura 24 mostra eritroblastos e linfoblastos

(estrela) íntegros após a administração de 140µM/kg de DM-1. Coloração de Giemsa em aumento de 400x.

A Figura 25 mostra a análise de um eritroblasto (seta) após a administração de 190µM/kg de ciclofosfamida.

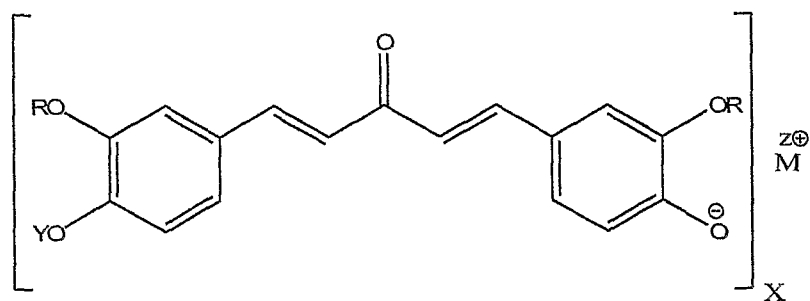
5 Coloração de Giemsa em aumento de 400x.

A Figura 26 mostra o esfregaço de medula óssea para o teste de micronúcleo após a administração de 140µM/kg de DM-1 e oito horas após, administração de 190µM/kg de ciclofosfamida. Coloração de Giemsa em aumento de 400x.

10 A Figura 27 mostra eritroblastos pela ação da administração de ciclofosfamida 190µM/kg, além de grande concentração de células com micronúcleo (setas). Coloração de Giemsa em aumento de 400x.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

15 A presente invenção refere-se à fenolatos metálicos de fórmula geral I:



em que

R, em cada ocorrência separada, é um átomo de
20 hidrogênio, um grupo alquila, um grupo prenila, um grupo

acetila, um grupo benzoila, ou um cátion metálico;

Y, em cada ocorrência separada, é um átomo de hidrogênio, um grupo alquila, um grupo prenila, um grupo acetila, um grupo benzoila, ou um cátion metálico;

5 X, em cada ocorrência separada, pode ser 1, 2 ou 3;

Mz+, em cada ocorrência separada, é um cátion monovalente, um cátion bivalente, ou um cátion trivalente.

Os compostos fenolatos metálicos polifuncionais descritos na presente invenção apresentam o efeito técnico inesperado de potencializarem a atividade antitumoral de 10 drogas antineoplásicas, de atuarem como citoprotetores, como adjuvantes protetores e estimulantes da medula óssea e como agentes preventivos de surgimento de tumores. Estes compostos apresentam ainda propriedades antimetastáticas e 15 antimutagênicas quando associados a drogas antitumorais, diminuindo a toxicidade dos mesmos. Os compostos aqui descritos apresentam também a capacidade de induzir a morte celular programada (apoptose, anoiquis) de doenças proliferativas humanas e animais e, portanto de inibir o 20 crescimento e impedir a migração de tumores humanos e animais.

Assim, a presente invenção refere-se ao uso destes compostos, em associação com drogas antitumorais, no tratamento, profilaxia ou prevenção de doenças neoplásicas,

prevenção de lesões metastáticas, proliferativas e/ou degenerativas. Em particular, a presente invenção refere-se ao uso destes compostos no tratamento, profilaxia ou prevenção de doenças neoplásicas provocadas por câncer de pulmão, carcinoma de mama e mama resistente a múltiplas drogas, cânceres de pele não melanoma e melanomas, leucemias linfóides, mielóides agudas e crônicas, eritroleucemia, mielodisplasias, cânceres de cólon, ovário, útero, rim, pâncreas, próstata, sarcomas de tecido mole, hepatocarcinomas, osteosarcomas, sistema nervoso central, neuroblastomas, astrocitomas, orofaringe, tireóide, gástrico, próstata e anexos do aparelho reprodutor masculino.

A presente invenção refere-se ainda a composições farmacêuticas que compreendem os fenolatos metálicos polifuncionais da presente invenção e que apresentam aplicações biológicas como adjuvantes antitumorais, citoprotetores, agentes antimetastáticos e agentes antimutagênicos quando associados a quimioterápicos.

Especificamente a presente invenção refere-se a formulações farmacêuticas que compreendem um ou mais fenolatos metálicos descritos na presente invenção, pelo menos uma droga antitumoral, e um ou mais dentre um veículo, excipiente, diluente ou solvente fisiologicamente

aceitáveis.

Composições farmacêuticas que compreendem um ou mais fenolatos metálicos descritos na presente invenção, como ingrediente ativo podem ser preparadas de acordo com técnicas convencionais de combinação farmacêutica [vide *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 18^o Ed., Mack Publishing Co., Easton, PA, EUA (1990)]. Tipicamente, uma quantidade do ingrediente ativo será misturada com um excipiente farmacêuticamente aceitável. O excipiente pode ter uma grande variedade de fórmulas dependendo da forma de preparação desejada para administração, por exemplo, intravenosa, oral ou parenteral. As composições podem conter também agentes estabilizantes, preservativos e similares.

Para a administração oral, os compostos podem ser formulados em preparações sólidas ou líquidas tais como cápsulas, pílulas, comprimidos, pastilhas, melados, pós, suspensões ou emulsões. Na preparação de composições na forma de dosagem oral, alguns dos meios farmacêuticos usuais podem ser empregados, como, por exemplo, a água, os glicóis, os óleos, os alcoóis, sabores artificiais, preservativos, corantes, suspensões, e similares no caso de preparações líquidas orais (como, por exemplo, as suspensões, os elixires e as soluções); ou veículos tais

como amidos, açúcares, diluentes, agentes granuladores, lubrificantes, pastas, agentes desintegrantes e similares no caso de preparações orais sólidas (como, por exemplo, os pós, as cápsulas e os comprimidos). Por causa de sua
5 facilidade de administração, comprimidos e cápsulas representam a forma mais vantajosa de administração oral de dosagem única, em que os excipientes farmacêuticos sólidos são obviamente empregados. Se desejado, os comprimidos podem ser revestidos de açúcar ou revestidos de protetores
10 entéricos por técnicas padrão. Os imunoterápicos descritos na descritos na presente invenção podem estar encapsulado para torná-lo estável para passagem através do trato gastrointestinal e ao mesmo tempo permitir a passagem através da barreira hemato-encefálica como descrito no
15 documento de patente WO 96/11698.

Para a administração parenteral, o composto pode ser dissolvido em um veículo farmacêutico e ser administrado como uma solução ou uma suspensão. Exemplos de veículos apropriados são água, salina, soluções de dextrose,
20 soluções de frutose, etanol ou óleos de origem animal, vegetal ou sintético. Outros veículos podem também conter outros ingredientes, por exemplo, preservativos, agentes suspensores, agentes solubilizantes, tampões e similares. Quando os compostos forem administrados intratecalmente,

estes podem também ser dissolvidos no líquido cerebrospinal.

As composições farmacêuticas devem conter aproximadamente 0,0001 a 99%, preferivelmente 5 aproximadamente 0,001 a 50 %, mais preferivelmente aproximadamente 0,01 a 10% do peso de um ou mais dos fenolatos metálicos descritos na presente invenção para o peso total da composição. Além de um ou mais dos fenolatos metálicos descritos na presente invenção, as composições 10 farmacêuticas e os medicamentos podem também conter outros compostos farmacêuticamente ativos. Quando usados em conjunto com outros compostos farmacêuticamente ativos, os fenolatos metálicos da presente invenção podem ser oferecidos na forma de coquetel de drogas. Um coquetel de 15 drogas é uma mistura de alguns compostos usados na presente invenção com uma outra droga ou agente. Nesta incorporação, um veículo comum de administração (por exemplo, pílula, comprimido, implante, bomba, solução injetável, etc.) poderá conter ambos a composição atual em 20 combinação com os agentes ativos suplementares. As drogas individuais do coquetel são cada uma administrada em quantidades terapêuticamente eficazes para alcançar os efeitos desejados.

Uma variedade de vias de administração dos fenolatos metálicos e das composições farmacêuticas descritos na presente invenção está disponível. O modo particular selecionado dependerá do composto em particular
5 selecionado, da severidade do estado da doença que está sendo tratada e a dosagem necessária para eficácia terapêutica. Os métodos da presente invenção, geralmente, podem ser praticados usando qualquer modo de administração biologicamente aceitável, i.e., qualquer modalidade que
10 produzir níveis eficazes dos compostos ativos sem causar efeitos adversos clinicamente indesejáveis. Tais modos de administração incluem as vias oral, retal, sublingual, tópica, nasal, transdermal ou parenteral. O termo "parenteral" inclui subcutânea, intravenosa, epidural,
15 irrigação, intramuscular, bombas de liberação, ou de infusão.

Assim, a administração de um ou mais fenolatos metálicos descritos na presente invenção pode ser conseguida usando todos os meios apropriados de oferta,
20 incluindo: (a) bomba (b) microencapsulamento (vide os documentos de patente 4,352,883; 4,353,888 e 5,084,350); (c) implantes de polímero de liberação contínua (vide o documento de patente US 4,883,666); (d) macroencapsulamento (vide os documentos de patente US 5,284,761; 5,158,881;

4,976,859 e 4,968,733 e os pedidos de patente WO92/19195 e WO95/05452); (e) enxertos celulares não capsulados no sistema nervoso central (vide os documentos de patente US 5,082,670 e 5,618,531); (f) injeção subcutânea, 5 intravenosa, intra-arterial, intramuscular, ou em outro local apropriado; ou (g) administração oral em cápsula, líquido, comprimido, pílula ou formulação de liberação prolongada.

Preferencialmente as composições farmacêuticas da 10 presente invenção são infusões para administração intravesical. Um ou mais fenolatos metálicos descritos na presente invenção são administrados preferivelmente em uma quantidade terapêuticamente eficaz. Por uma "quantidade terapêuticamente eficaz" ou simplesmente "uma quantidade 15 eficaz" de um composto ativo entende-se uma quantidade média suficiente do fenolato metálicos para tratar a doença desejada, mantendo uma razoável proporção risco/benefício aplicável a qualquer tratamento médico. A quantidade real administrada, a taxa e o tempo de curso de administração, 20 dependerão da natureza e da severidade das condições que está sendo tratada. A prescrição do tratamento, por exemplo, decisões de dosagem, duração, etc., dependem do acompanhamento da doença a ser tratada, da condição individual do paciente, da via e do método de

administração, e outros fatores típicos de conhecimento dos clínicos que estão dentro das responsabilidades dos clínicos gerais ou dos especialistas,

A dosagem pode ser ajustada apropriadamente para
5 conseguir níveis desejados do fenolato metálico, localmente ou sistemicamente.

A presente invenção refere-se ainda ao uso fenolatos metálicos polifuncionais descritos na presente invenção na preparação de medicamentos para o tratamento, profilaxia ou
10 prevenção de doenças neoplásicas em humanos e animais.

Desta forma constitui um outro aspecto desta invenção o uso dos compostos desta invenção para manufaturar medicamentos para uso no tratamento, profilaxia ou prevenção de doenças neoplásicas, lesões metastáticas,
15 proliferativas e/ou degenerativas. Em particular, os compostos aqui descritos podem ser usados para tratar ou prevenir ou para manufaturar medicamentos para uso no tratamento, profilaxia ou prevenção de doenças neoplásicas provocadas por câncer de pulmão, carcinoma de mama e mama
20 resistente a múltiplas drogas, cânceres de pele não melanoma e melanomas, leucemias linfóides, mielóides agudas e crônicas, eritroleucemia, mielodisplasias, cânceres de cólon, ovário, útero, rim, pâncreas, próstata, sarcomas de tecido mole, hepatocarcinomas, osteosarcomas, sistema

nervoso central, neuroblastomas, astrocitomas, orofaringe, tireóide, gástrico, próstata e anexos do aparelho reprodutor masculino.

EXEMPLOS

5 Para permitir uma melhor compreensão da presente invenção e demonstrar claramente os avanços técnicos obtidos são agora apresentados como exemplos os resultados dos diferentes ensaios efetuados com relação a esta invenção.

EXEMPLO 1: Potencialização da atividade antitumoral dos
10 **quimioterápicos paclitaxel e etoposídeo mediante o uso concomitante do composto DM-1 em adenocarcinoma mamário experimental (Tumor de Ehrlich).**

a) Manutenção do tumor in vivo e obtenção das células do tumor ascítico de Ehrlich.

15 Como modelo experimental de adenocarcinoma mamário, foi utilizado o tumor de de *Ehrlich* em camundongos da linhagem *Balb-c*, de aproximadamente 2 meses de idade e pesando entre 20 a 25 gramas. A manutenção do tumor *in vivo* foi realizada pela administração intraperitoneal de 10^7
20 células a cada sete dias.

b) Animais e delineamento experimental

Foram utilizados 50 camundongos da linhagem *Balb-c*, fêmeas e machos, com aproximadamente 25g, idade aproximada de 6 a 8 semanas, dieta de água e ração *ad libitum*, os

quais foram divididos em 5 grupos:

GRUPO CONTROLE - 10 animais portadores de tumor implantado, que após o 7º dia da aplicação, receberam doses intraperitoneais diárias de solução fisiológica 0,9%;

5 GRUPO TRATADO COM PACLITAXEL - 10 animais portadores de tumor implantado, que após o 7º dia da aplicação, receberam doses intraperitoneais do quimioterápico paclitaxel no 1º, 5º e 10º dia de tratamento;

10 GRUPO TRATADO COM PACLITAXEL E DM-1 - 10 animais portadores de tumor implantado, que após o 7º dia da aplicação, receberam doses intraperitoneais diárias do composto DM-1, associado a doses do quimioterápico paclitaxel no 1º, 5º e 10º dia de tratamento;

15 GRUPO TRATADO COM ETOPOSÍDEO - 10 animais portadores de tumor implantado, que após o 7º dia da aplicação, receberam doses intraperitoneais do quimioterápico etoposídeo no 1º, 5º e 10º dia de tratamento;

20 GRUPO TRATADO COM ETOPOSÍDEO E DM-1 - 10 animais portadores de tumor implantado, que após o 7º dia da aplicação, receberam doses intraperitoneais diárias do composto DM-1, associado a doses do quimioterápico etoposídeo no 1º, 5º e 10º dia de tratamento.

c) Administração dos compostos paclitaxel, etoposídeo e DM-1,

O composto DM-1 foi administrado diariamente na concentração de 1,6nM/Kg, calculada a partir da atividade inibitória IC50% *in vitro*. O paclitaxel e o etoposídeo foram administrados nas concentrações de 15µM/Kg e 5 3,73µM/Kg, respectivamente, pela via intraperitoneal em infusão lenta, nos esquemas terapêuticos descritos na literatura nos dias 1, 5 e 10, após o 7º dia do implante do tumor. Os compostos foram administrados separadamente.

d) Avaliação do crescimento tumoral

10 O crescimento tumoral nos camundongos foi medido pelas dimensões: longitudinais e transversais da cavidade abdominal, com o auxílio de um paquímetro digital. Estas medidas foram usadas para calcular a área, massa e carga tumoral. As médias da área (A), massa (M) e da carga 15 tumoral (C) foram calculadas usando as seguintes equações, respectivamente: $A = \pi R^2$; $M = L^2 \times T / 2$ (onde L é a medida longitudinal e T a medida transversal da circunferência abdominal).

Os grupos de animais tratados com paclitaxel e 20 etoposídeo em associação ao composto DM-1 apresentaram redução significativa no crescimento tumoral em relação ao grupo controle e aos grupos tratados somente com os quimioterápicos paclitaxel e etoposídeo, com valores médios

de área tumoral de $5.3 \pm 1.0 \text{cm}^2$ no grupo tratado com paclitaxele DM-1, $6.8 \pm 1.1 \text{cm}^2$ no grupo tratado com etoposídeo e DM-1, enquanto o grupo controle apresentou valores médios de $12.0 \pm 1.1 \text{cm}^2$, $11.4 \pm 1 \text{cm}^2$ no grupo tratado
5 com paclitaxel e $8.6 \pm 1.0 \text{cm}^2$ no grupo tratado com etoposídeo. A eficácia do tratamento aumentou 115% e 27% em relação aos grupos tratados apenas com os quimioterápicos paclitaxel e etoposídeo, respectivamente (Figura 1).

e) Avaliação da taxa de sobrevida

10 A taxa de sobrevida foi calculada pelo teste de Kaplan-Meier. Os animais tratados com os quimioterápicos paclitaxel e etoposídeo apresentaram aumento de sobrevida de 20% e 10% respectivamente, quando associados ao composto DM-1 (Figura 2).

15 *f) Avaliação do número de metástases.*

Os resultados mostraram que nos animais tratados com os quimioterápicos paclitaxel e etoposídeo quando associados ao composto DM-1, a porcentagem de metástases internas diminuiu significativamente. O grupo tratado com
20 paclitaxel e DM-1 apresentou diminuição de metástases em 30% nos rins e 50% no baço enquanto o grupo tratado Etoposídeo+DM-1 apresentou diminuição de 30% nos rins e 40% no baço. Os grupos tratados apenas com os quimioterápicos paclitaxel ou etoposídeo apresentaram redução no número de

metástases de 10% e 30% e 30% e 50%, nos rins e baço, respectivamente (Figura 3).

g) Avaliação macroscópica do baço e do volume esplênico

Os baços dos animais de todos os grupos experimentais foram analisados para a visualização de metástases e nódulos.

Os resultados mostraram que o volume esplênico dos grupos tratados com os quimioterápicos paclitaxel e etoposídeo em associação com o composto DM-1 não diferiram quanto ao volume esplênico dos animais normais. Além disso, nota-se que a administração dos quimioterápicos paclitaxel e etoposídeo sem o composto DM-1 torna o volume esplênico semelhante ao dos animais sem tratamento (Figura 4).

Assim, a imunossupressão que acomete os animais com tumor ascítico de Ehrlich encontrada em animais do grupo controle foi suprimida pela administração do composto DM-1 em todos os protocolos experimentais. Estes resultados mostram, portanto que o composto DM-1 age como imunomodulador ou mesmo quimioprotetor.

EXEMPLO 2: Potencialização da atividade antitumoral dos quimioterápicos paclitaxel e etoposídeo mediante o uso concomitante do composto DM-1 em melanoma B16F10.

a) Implantação das Células Tumorais de Melanoma B16F10

Grupos de camundongos da linhagem C57Bl/6J foram injetados pela via subcutânea dorsalmente com 5×10^4 células tumorais de melanoma B16F10 em condições estéreis. Os animais foram observados a cada 72 horas e o crescimento tumoral acompanhado até atingir o diâmetro médio de $0,5 \text{cm}^2$.

b) Animais e Delineamento Experimental

Foram utilizados 50 camundongos da linhagem C57BL/6J, fêmeas e machos, com aproximadamente 25g, idade aproximada de 6 a 8 semanas, dieta de água e ração *ad libitum*, os quais foram divididos em 5 grupos:

GRUPO CONTROLE - 10 animais portadores de tumor melanoma B16F10, que após o 11º dia do implante tumoral, receberam doses intraperitoneais diárias de solução fisiológica 0,9%;

GRUPO TRATADO COM PACLITAXEL - 10 animais portadores de tumor melanoma B16F10, que após o 11º dia do implante tumoral, receberam doses intraperitoneais do quimioterápico paclitaxel no 1º, 5º e 9º dia de tratamento;

GRUPO TRATADO COM PACLITAXEL E DM-1 - 10 animais portadores de tumor melanoma B16F10, que após o 11º do implante tumoral, receberam doses intraperitoneais diárias do composto DM-1, associado a doses do quimioterápico paclitaxel no 1º, 5º e 9º dia de tratamento;

GRUPO PRÉ TRATADO COM O COMPOSTO DM-1 ANTERIORMENTE AO IMPLANTE DE CÉLULAS DE MELANOMA B16F10 - 10 animais foram tratados com doses diárias do composto DM-1 por 14 dias, antes da implantação das células tumorais. Após os 14 dias, os animais receberam o implante de células de melanoma B16F10 e não receberam nenhum tratamento até o término do experimento.

GRUPO PRÉ TRATADO COM O COMPOSTO DM-1 ANTERIORMENTE E AO IMPLANTE DE CÉLULAS DE MELANOMA B16F10 E PÓS TRATADO COM DM1- 10 animais foram tratados com doses diárias do composto DM-1 por 14 dias, antes da implantação das células tumorais. Após 14 dias, os animais receberam o implante de células de melanoma B16F10 e continuaram a receber tratamento diário com o composto DM-1 por mais 14 dias.

15 c) *Administração dos compostos DM-1 paclitaxel*

O composto DM-1 foi administrado diariamente na concentração de 0,83nM/Kg, calculada a partir da atividade inibitória IC50% *in vitro*. O paclitaxel foi administrado na concentração de 15µM/Kg, pela via intraperitoneal em infusão lenta, nos esquemas de tratamento descritos na literatura nos dias 1, 5 e 10, após o 7º dia do implante do tumor. Os compostos foram administrados separadamente.

d) *Avaliação do crescimento do tumoral.*

Os grupos de animais tratados com o quimioterápico

paclitaxel associado ao composto DM-1 apresentaram redução significativa no crescimento do melanoma dorsal, enquanto o grupo controle obteve um aumento exponencial em seu crescimento.

5 Os grupos tratados com DM-1 apresentaram diminuição na área tumoral dorsal, com valores médios de $6.5 \pm 1.7 \text{cm}^2$ no grupo pré-tratado com DM-1, $7.3 \pm 1.3 \text{cm}^2$ no grupo pré e pós tratado com DM-1 (Figura 5).

10 O grupo tratado com paclitaxel e DM-1 obteve redução da área tumoral em relação ao grupo tratado com paclitaxel, $5.1 \pm 1.5 \text{cm}^2$ e $9.4 \pm 1.1 \text{cm}^2$, respectivamente. O grupo controle apresentou valores médios de $9.5 \pm 2.9 \text{cm}^2$ comprovando a atividade antitumoral eficiente dos grupos tratados com a associação do composto DM-1 (Figura 6).

15 e) *Avaliação da taxa de sobrevida*

O composto DM-1 em todos os esquemas terapêuticos, aumentou de forma expressiva a taxa de sobrevida dos animais portadores de melanoma dorsal. A administração do composto no grupo pré tratado com DM-1 aumentou em 50% a taxa de sobrevida dos animais. No grupo pré e pós DM-1 o aumento da taxa de sobrevida foi de 30%, e no grupo tratado com paclitaxel e DM-1 de 30%. O grupo tratado apenas com paclitaxel não apresentou modificações significativas na taxa de sobrevida destes animais (Figuras 7 e 8).

f) Avaliação do número de metástases

Os resultados mostraram que em todos os esquemas terapêuticos onde foi administrado o composto DM-1 a porcentagem de metástases internas diminuiu significativamente. Nos animais do grupo pré tratado com DM-1 foi observada uma inibição da formação de metástases pulmonares e hepáticas, assim como nos grupos pré e pós tratado com DM-1 e tratado com paclitaxel em associação a DM-1. A associação do tratamento DM-1 ao quimioterápico paclitaxel mostrou que o composto é extremamente eficaz, a associação de DM-1 potencializou o efeito inibitório da formação de metástases de paclitaxel (Figuras 9 e 10).

g) Avaliação Hematológica

O sangue dos animais portadores do tumor melanoma B16F10 foi colhido no 6° e 14° dias durante o tratamento com o composto DM-1 e anteriormente à inoculação das células B16F10. Nos gráficos, as coletas referentes ao 6° dia foram nomeadas 1A, enquanto as referentes ao 14° dia foram denominadas 2A. Após o implante tumoral foram realizadas coletas de sangue no 2°, 6° e 10° dia de tratamento (pós tratamento com DM-1), em todos os grupos de animais, tendo essas coletas sido denominadas 1B e 2B e 3B, respectivamente.

A análise do número de eritrócitos dos animais

tratados com DM-1 mostrou que o tratamento com DM-1 não induz anemia. Além disso, o composto DM-1 mostrou-se eficaz na prevenção dos efeitos colaterais da supressão da medula óssea. O composto DM-1 modula também os efeitos anêmicos causados pelo tumor nos grupos tratados com DM-1 e DM-1 em associação ao Paclitaxel (Figuras 11 e 12).

A análise o número de leucócitos dos animais tratados com o composto DM-1 mostrou que o composto DM-1 leva a alterações significativas no número de leucócitos, quando comparado ao grupo controle. A alteração no número de leucócitos dos animais dos grupos pré tratado com DM-1 e pré e pós tratado com DM-1 e paclitaxel em associação com DM-1 mostra que o composto DM-1 apresenta propriedades imunomoduladoras (Figuras 13 e 14).

A análise o número de plaquetas dos animais tratados com o composto DM-1 mostrou que o composto DM-1 leva a reduções significativas no número de plaquetas ao longo do tratamento, quando comparado ao grupo controle. O tratamento apenas com paclitaxel, por outro lado, induziu a um aumento do número de plaquetas. Estes dados corroboram com as análises realizadas nas necropsias dos diferentes grupos experimentais, reforçando a capacidade inibitória da progressão e formação de metástases após a administração do composto DM-1. (Figuras 15 e 16).

h) Análise das fases do ciclo celular e apoptose

Suspensões de 10^6 células de melanoma B16F10 foram retiradas de todos os grupos de animais submetidos aos vários protocolos experimentais descrito acima (Grupo pré tratado com DM-1, grupo pré e pós tratado com DM-1, grupo tratado com paclitaxel, grupo tratado paclitaxel em associação com DM-1 e grupo controle). As células foram então congeladas e mantidas em nitrogênio líquido. Após incubação com iodeto de propídio, foi realizada a análise em um citômetro FacsCalibur. Os resultados foram expressos em porcentagem média de células nas diferentes fases do ciclo celular: debris e necrose, apoptose (sub-G1), G0/G1 células quiescentes não proliferantes, fase S - em síntese de material genético e G2/M no início da divisão celular.

Os resultados mostraram que o tratamento com o quimioterápico paclitaxel induziu aumento significativo da proporção das células mortas por necrose em comparação aos grupos controle e tratados com o composto DM-1.

Apoptose é a morte programada de uma célula quando há danos no DNA, RNA ou formação de proteínas. Difere da necrose por ser silenciosamente caracterizada pela diminuição do volume do núcleo, sua fragmentação, alteração da permeabilidade da membrana plasmática e dissolução citoplasmática lenta, sem os fenômenos abruptos que

caracterizam a lise celular. A célula tumoral consegue impedir a apoptose e, portanto continuar sua proliferação no tecido. Induzir o processo de apoptose em células tumorais é extremamente difícil. A porcentagem de células na fase sub-G1 ou apoptóticas aumentou significativamente após a administração do composto DM-1 nos grupos pré tratado com DM-1, pré e pós tratado com DM-1 e tratado com paclitaxel em associação com DM-1. Os protocolos de tratamento com o composto DM-1 aumentaram assim proporção de apoptose celular, além de reduzir a proporção das células na fase quiescente G0/G1 (Figuras 17, 18, 19, 20 e 21). Estes dados indicam que o composto DM-1 em associação com os quimioterápicos paclitaxel e etoposídeo é um excelente agente indutor de apoptose em células tumorais, sem produzir o mesmo efeito em células normais.

EXEMPLO 3: Atividade antimutagênica de DM-1

a) Animais e delineamento experimental

O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética, protocolo 184-07 da Universidade Bandeirante de São Paulo (UNIBAN). Todos os Experimentos realizados apresentaram aprovação pelo Comitê Brasileiro de Experimentação Animal (protocolos nº478/08 e 479/08).

Foram utilizados animais da linhagem Wistar, machos e fêmeas, com aproximadamente 90 dias de idade e peso

corporal entre 250 e 300 gramas, mantidos com água e ração "ad libitum" e de conformidade com as normas e procedimentos relativos ao uso de animais de laboratório.

Os animais foram divididos em quatro grupos:

5 GRUPO CONTROLE NEGATIVO - 06 animais tratados com uma dose única de solução fisiológica a 0,7%.

GRUPO TRATADO COM O COMPOSTO DM-1 - 06 animais tratados com uma dose única do composto DM-1.

10 GRUPO PRÉ-TRATADO COM DM-1 E TRATADO COM CICLOFOSFAMIDA - 06 animais tratados com uma dose única do composto DM-1, administrado 8 horas antes de uma dose única do quimioterápico ciclofosfamida.

15 GRUPO TRATADO COM CICLOFOSFAMIDA (CONTROLE POSITIVO) - 06 animais tratados com uma dose única do quimioterápico ciclofosfamida.

b) Administração dos compostos DM-1 e Ciclofosfamida

20 Em todos os ensaios foi administrado 1 mL da solução de interesse por via intraperitoneal. O composto DM-1 foi administrado diariamente na concentração de 140µM/Kg. A ciclofosfamida foi administrada na concentração de 190µM/Kg. Os compostos foram administrados separadamente. Ao final do experimento (24 e 48 horas), os animais foram submetidos à eutanásia induzida por anestesia geral profunda por dose letal de tiopentabarbital sódico (CRMV,

2008).

c) *Avaliação da mutagenicidade por teste de micronúcleo*

Este estudo permitiu analisar a ação mutagênica de compostos em estudo. Compostos mutagênicos ao serem administrados em animais de experimentação provocam mutações na cromatina que podem ser identificadas pela formação de uma massa dentro do núcleo denominado de micronúcleo. O surgimento desta massa é quantificado e sua proporção analisada quanto à capacidade ou não de determinada droga ser mutagênica.

Para estudo de micronúcleos foi utilizada a técnica relatada por Ribeiro et al. (Mutagênese Ambiental. Editora Ulbra. Canoas: 1ª edição, 2003.) Para a coloração das lâminas foi utilizada a técnica descrita por RABELLO-GAY et al., apud SILVA, J. C. da; SILVA, S. da C. Avaliação do Possível Efeito Genotóxico do Gergilim (*Sesamum indicum* L., 2003).

No teste, o efeito do agente químico é observado em eritrócitos policromáticos anucleados (PCEs), que possuem tempo de vida relativamente curto, de modo que qualquer micronúcleo que ele contenha foi gerado como resultado de recentes danos cromossômicos. Para a coloração das lâminas foi utilizado o corante Giemsa, diluído em solução tampão fosfato com pH 6.8, na proporção 1:10, por um período de 15

minutos. Após a coloração, as lâminas foram lavadas em água destilada para remoção do excesso de corante. Para a leitura das lâminas utilizamos microscópio óptico e realizamos contagem e análise de 1000 eritrócitos policromáticos por lâmina, considerando a frequência de eritrócitos policromáticos micronucleados.

A análise das células foi realizada com aumentos de 40x e 100x para a visualização da morfologia geral dos esfregaços do grupo controle negativo (Figura 22), com os grupos tratados apenas com o composto DM1 e seus respectivos eritrócitos policromáticos (Figuras 23, 24 e 25). Foram analisadas 1000 células por animal, para os grupos tratados com DM1, ciclofosfamida e controle negativo até um total de 40.000 células. A fotodocumentação dos eritrócitos policromáticos foi obtida por sistema digital AVsoft. O grupo tratado com ciclofosfamida constituiu o controle positivo da técnica (Figura 27). Os resultados da frequência de eritrócitos policromáticos micronucleados em 1000 células analisadas foi de 36/1000. O controle negativo obteve média de 2/1000 eritrócitos policromáticos micronucleados.

A Tabela 1 mostra as frequências observadas (F_o) de eritrócitos policromáticos com micronúcleo em 1000 eritrócitos policromáticos em cada animal tratado com os

vários compostos. Os resultados obtidos foram submetidos a análises estatísticas, com o Teste de Variância de Anova, seguida do teste Tukey-Kramer de comparações múltiplas (dados paramétricos) sendo o nível de significância adotado 5 5%, ou seja, a probabilidade $P < 0,05$).

Tabela 1: Freqüências observadas de eritrócitos policromáticos com micronúcleo numa análise de 1000 Eritrócitos Policromáticos em cada rato tratado com solução fisiológica, DM-1 e/ou Ciclofosfamida.

10	Freqüência	24 Horas	48 Horas
	Controle	2,3±0,5	2,0±0,5
	DM-1	2,4±0,5	2,2±0,5
	Ciclofosfamida+DM-1	3,5±0,8	3,2±1,0
	Ciclofosfamida	36,5±1,0***	
15	35,5±1,0***		

*** $P < 0,0001$ em relação à Ciclofosfamida+DM-1, DM-1 e Controle Negativo (ANOVA)

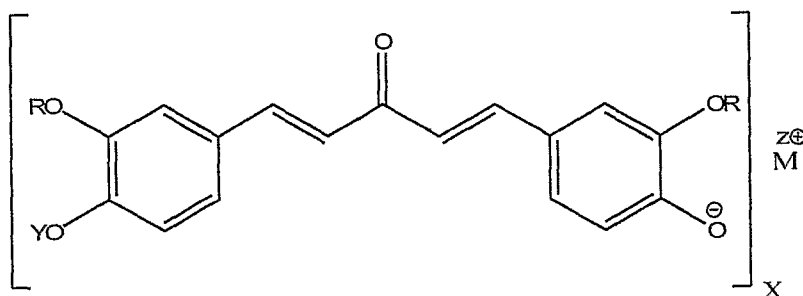
Podemos observar uma clara alteração celular após a administração do ciclofosfamida, utilizada como controle positivo. Observamos de maneira significativa a ordenação na formação dos eritrócitos, do material extraído da medula óssea, quando associado ao composto DM-1. Há também uma melhor resposta na formação de células jovens, no controle

negativo. Quando o composto DM-1 foi administrado em pré-tratamento antes da administração de ciclofosfamida, houve uma diminuição sensível de micronúcleos (Figura 26) e uma melhor regeneração celular, resultando em uma resposta
5 muito positiva ao composto DM-1. Podemos concluir que o composto DM-1 apresenta uma grande preservação da medula óssea e uma sensível ação na diminuição de efeitos clastogênicos. Após os testes realizados pelo método de
10 avaliação da presença de micronúcleo no esfregaço de medula óssea em animais tratados com o composto DM-1 não foram encontradas alterações significativas e os resultados estão próximos do grupo controle negativo, entretanto no grupo tratado com ciclofosfamida, encontramos a presença de mais de 200 células com micronúcleos, confirmando a ação
15 mutagênica. O grupo pré-tratado com o composto DM-1 e após 8 horas tratado com a ciclofosfamida mostrou resultados extremamente significativos, que nos leva a concluir que o composto DM-1 possui ação antimutagênica, e apresenta excelente ação adjuvante com outros fármacos antitumorais
20 comerciais já conhecidos, melhorando a capacidade de ação da droga, diminuindo os efeitos colaterais, resultando em uma melhora da qualidade de vida do paciente.

REIVINDICAÇÕES

1. Composição farmacêutica **caracterizada por** compreender um ou mais fenolatos metálicos de fórmula geral

I:



em que

R, em cada ocorrência separada, é um átomo de hidrogênio, um grupo alquila, um grupo prenila, um grupo acetila, um grupo benzoila, ou um cátion metálico;

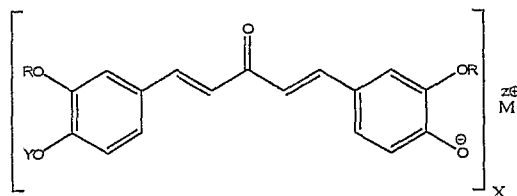
Y, em cada ocorrência separada, é um átomo de hidrogênio, um grupo alquila, um grupo prenila, um grupo acetila, um grupo benzoila, ou um cátion metálico;

X, em cada ocorrência separada, pode ser 1, 2 ou 3;

M^{z+} , em cada ocorrência separada, é um cátion monovalente, um cátion bivalente, ou um cátion trivalente, como adjuvante antitumoral, pelo menos uma droga antitumoral, e um ou mais dentre um veículo, excipiente, diluente ou solvente fisiologicamente aceitáveis.

2. Composição farmacêutica **caracterizada por** compreender um ou mais fenolatos metálicos de fórmula geral

I:



em que

R, em cada ocorrência separada, é um átomo de hidrogênio, um grupo alquila, um grupo prenila, um grupo acetila, um grupo benzoila, ou um cátion metálico;

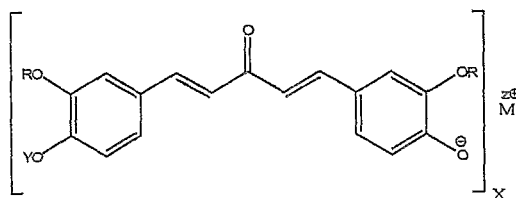
Y, em cada ocorrência separada, é um átomo de hidrogênio, um grupo alquila, um grupo prenila, um grupo acetila, um grupo benzoila, ou um cátion metálico;

X, em cada ocorrência separada, pode ser 1, 2 ou 3;

M^{z+} , em cada ocorrência separada, é um cátion monovalente, um cátion bivalente, ou um cátion trivalente, como agente citoprotetor, pelo menos uma droga antitumoral, e um ou mais dentre um veículo, excipiente, diluente ou solvente fisiologicamente aceitáveis.

3. Composição farmacêutica **caracterizada por** compreender um ou mais fenolatos metálicos de fórmula geral

I:



em que

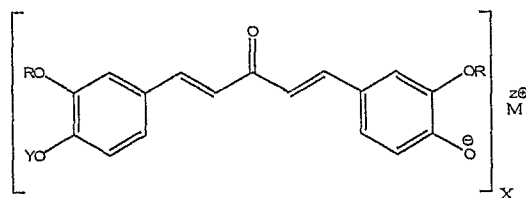
R, em cada ocorrência separada, é um átomo de hidrogênio, um grupo alquila, um grupo prenila, um grupo acetila, um grupo benzoila, ou um cátion metálico;

Y, em cada ocorrência separada, é um átomo de hidrogênio, um grupo alquila, um grupo prenila, um grupo acetila, um grupo benzoila, ou um cátion metálico;

X, em cada ocorrência separada, pode ser 1, 2 ou 3;

M^{z+} , em cada ocorrência separada, é um cátion monovalente, um cátion bivalente, ou um cátion trivalente, como agente antimetástico, pelo menos uma droga antitumoral, e um ou mais dentre um veículo, excipiente, diluente ou solvente fisiologicamente aceitáveis.

4. Composição farmacêutica **caracterizada por** compreender um ou mais fenolatos metálicos de fórmula geral I:



em que

R, em cada ocorrência separada, é um átomo de hidrogênio, um grupo alquila, um grupo prenila, um grupo acetila, um grupo benzoila, ou um cátion metálico;

Y, em cada ocorrência separada, é um átomo de hidrogênio, um grupo alquila, um grupo prenila, um grupo acetila, um grupo benzoila, ou um cátion metálico;

X, em cada ocorrência separada, pode ser 1, 2 ou 3;

M^{z+} , em cada ocorrência separada, é um cátion monovalente, um cátion bivalente, ou um cátion trivalente, como agente antimutagênico, pelo menos uma droga antitumoral, e um ou mais dentre um veículo, excipiente, diluente ou solvente fisiologicamente aceitáveis.

5. Composição farmacêutica, de acordo com qualquer umas das reivindicações 1 a 4, **caracterizada pelo** fato do fenolato metálico polifuncional ser 4-[5-(4-hidroxi-3-metoxi-fenil)-3-oxo-penta-1,4-dienil]-2-metoxi-fenolato de sódio.

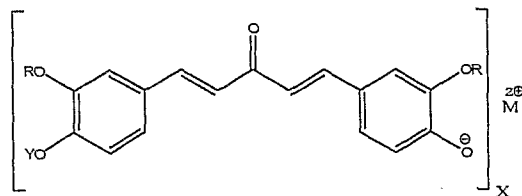
6. Composição farmacêutica, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, **caracterizada pelo** fato do agente quimioterápico ser plactaxel.

7. Composição farmacêutica, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, **caracterizada pelo** fato do agente quimioterápico ser etoposideo.

8. Composição farmacêutica, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, **caracterizada pelo** agente quimioterápico ser ciclofosfamida.

9. Uso de fenolato metálico polifuncional de fórmula

geral I:



em que

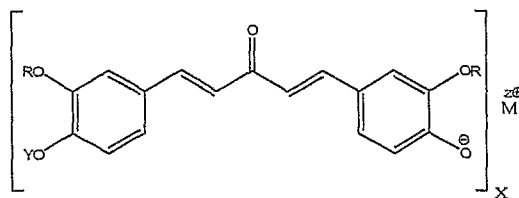
R, em cada ocorrência separada, é um átomo de hidrogênio, um grupo alquila, um grupo prenila, um grupo acetila, um grupo benzoila, ou um cátion metálico;

Y, em cada ocorrência separada, é um átomo de hidrogênio, um grupo alquila, um grupo prenila, um grupo acetila, um grupo benzoila, ou um cátion metálico;

X, em cada ocorrência separada, pode ser 1, 2 ou 3;

M^{z+} , em cada ocorrência separada, é um cátion monovalente, um cátion bivalente, ou um cátion trivalente, **caracterizado por** ser para a preparação de um medicamento adjuvante antitumoral para o tratamento, profilaxia ou prevenção de doenças neoplásicas em humanos e animais.

10. Uso de fenolato metálico polifuncional de fórmula geral I:



em que

R, em cada ocorrência separada, é um átomo de hidrogênio, um grupo alquila, um grupo prenila, um grupo acetila, um grupo benzoila, ou um cátion metálico;

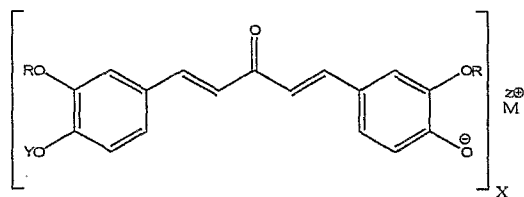
Y, em cada ocorrência separada, é um átomo de hidrogênio, um grupo alquila, um grupo prenila, um grupo acetila, um grupo benzoila, ou um cátion metálico;

X, em cada ocorrência separada, pode ser 1, 2 ou 3;

M^{z+} , em cada ocorrência separada, é um cátion monovalente, um cátion bivalente, ou um cátion trivalente, **caracterizado por** ser para a preparação de um medicamento citoprotetor para o tratamento, profilaxia ou prevenção de doenças neoplásicas em humanos e animais.

11. Uso de fenolato metálico polifuncional de fórmula geral

I:



em que

R, em cada ocorrência separada, é um átomo de hidrogênio, um grupo alquila, um grupo prenila, um grupo acetila, um grupo benzoila, ou um cátion metálico;

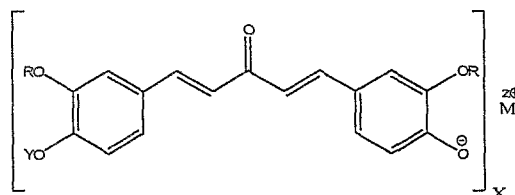
Y, em cada ocorrência separada, é um átomo de hidrogênio, um grupo alquila, um grupo prenila, um grupo

acetila, um grupo benzoila, ou um cátion metálico;

X, em cada ocorrência separada, pode ser 1, 2 ou 3;

M^{z+} , em cada ocorrência separada, é um cátion monovalente, um cátion bivalente, ou um cátion trivalente, caracterizado por ser para a preparação de um medicamento antimetástico para o tratamento, profilaxia ou prevenção de doenças neoplásicas em humanos e animais.

12. Uso de fenolato metálico multifuncional de fórmula geral I:



em que

R, em cada ocorrência separada, é um átomo de hidrogênio, um grupo alquila, um grupo prenila, um grupo acetila, um grupo benzoila, ou um cátion metálico;

Y, em cada ocorrência separada, é um átomo de hidrogênio, um grupo alquila, um grupo prenila, um grupo acetila, um grupo benzoila, ou um cátion metálico;

X, em cada ocorrência separada, pode ser 1, 2 ou 3;

M^{z+} , em cada ocorrência separada, é um cátion monovalente, um cátion bivalente, ou um cátion trivalente, caracterizado por ser para a preparação de um medicamento antimutagênico para o tratamento, profilaxia ou prevenção

de doenças neoplásicas em humanos e animais.

13. Uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 8 a 12, **caracterizado pelo** fato do fenolato metálico polifuncional ser 4-[5-(4-hidroxi-3-metoxi-fenil)-3-oxo-penta-1,4-dienil]-2-metoxi-fenolato de sódio.

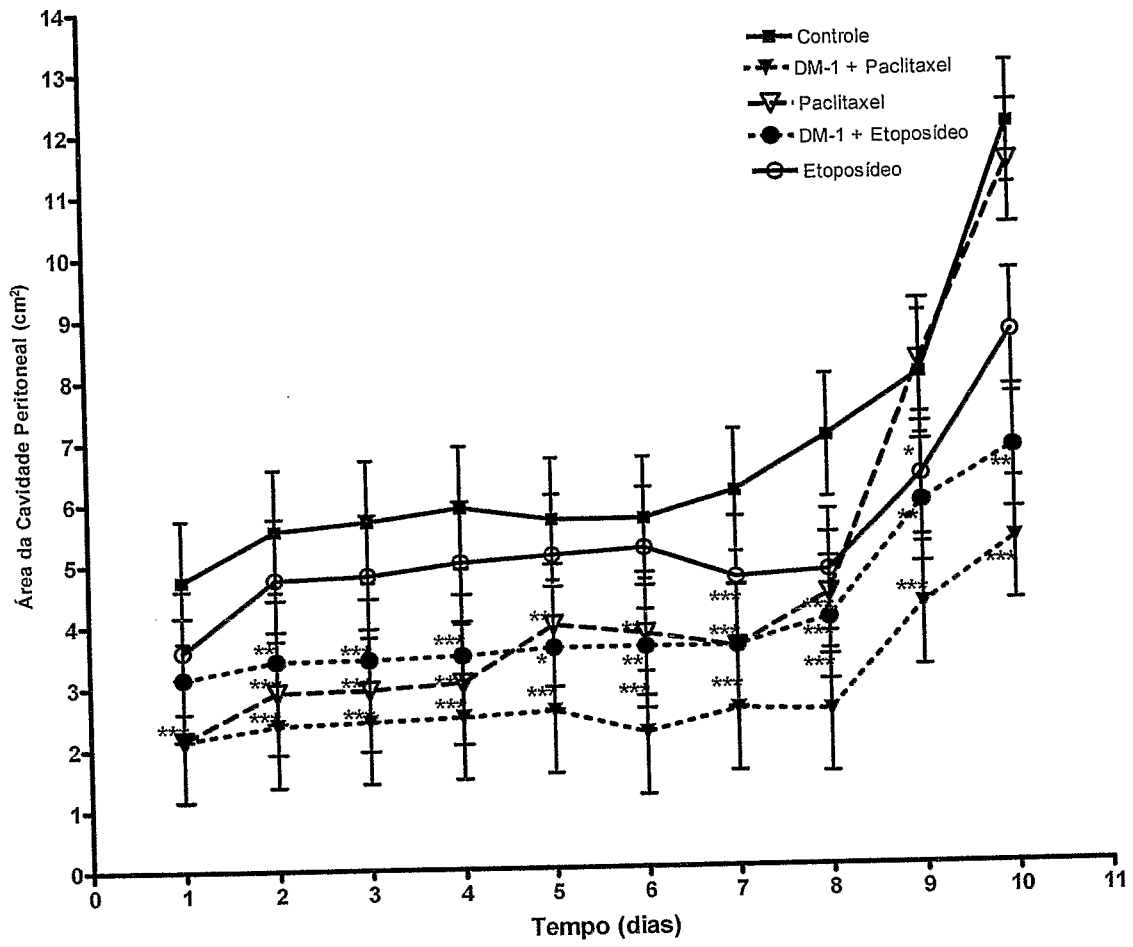


FIGURA 1

2/27

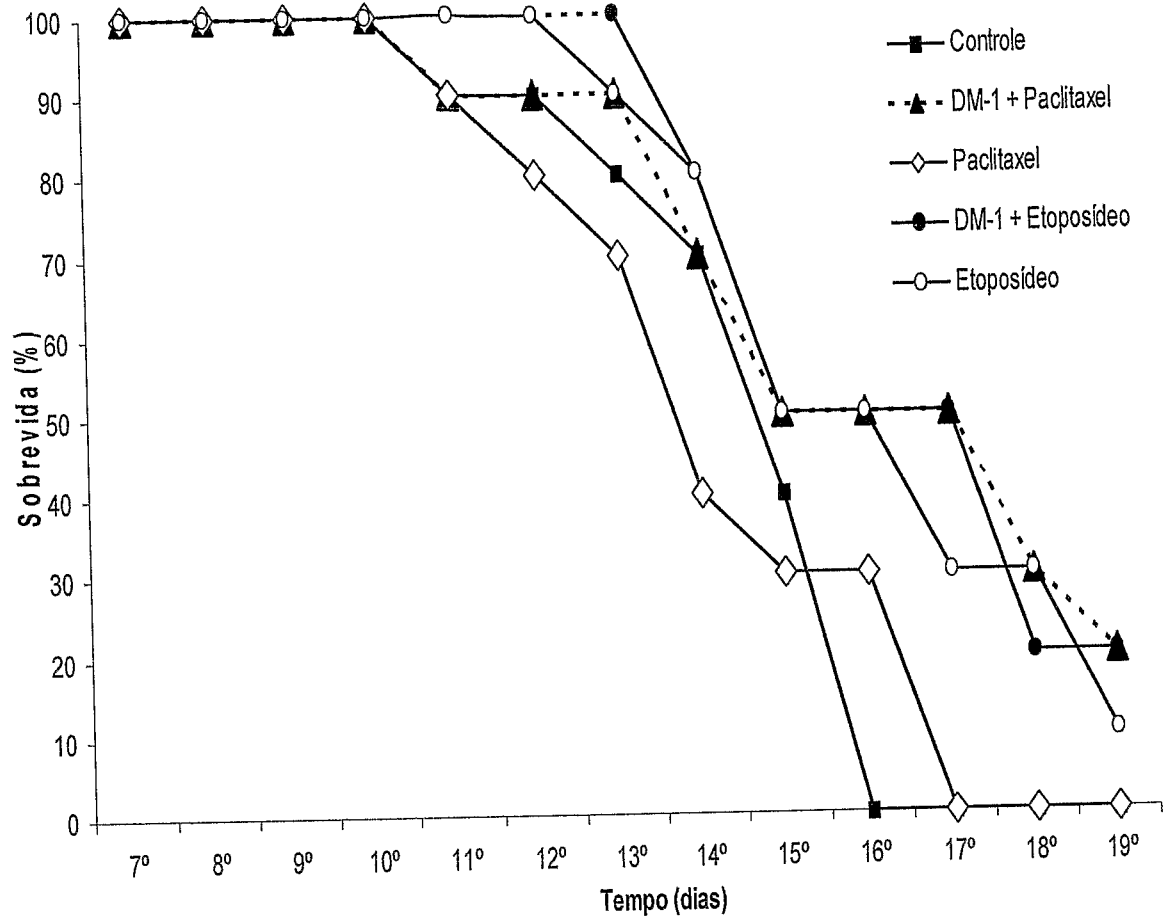


FIGURA 2

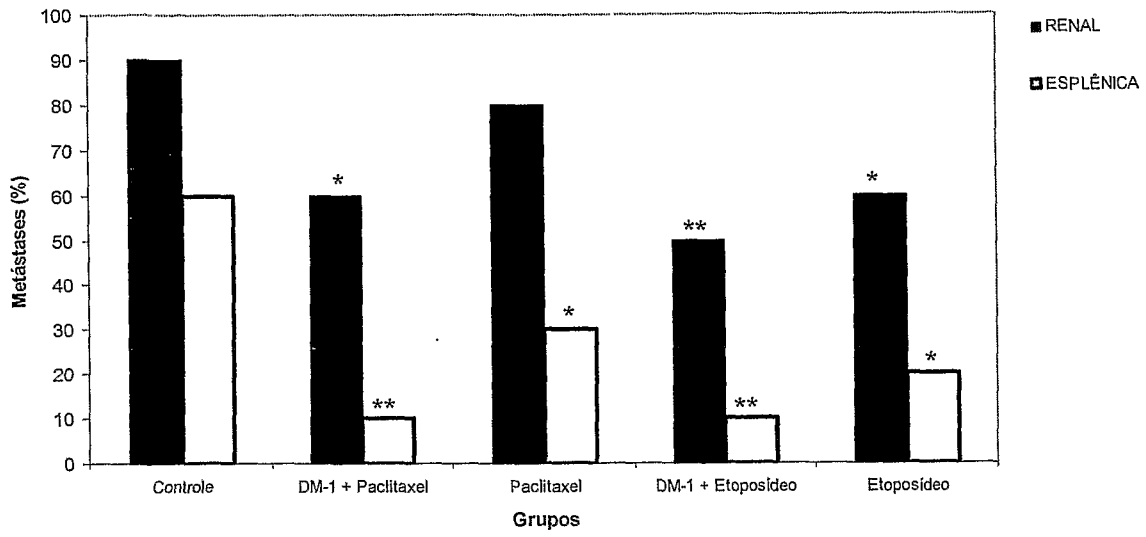


FIGURA 3

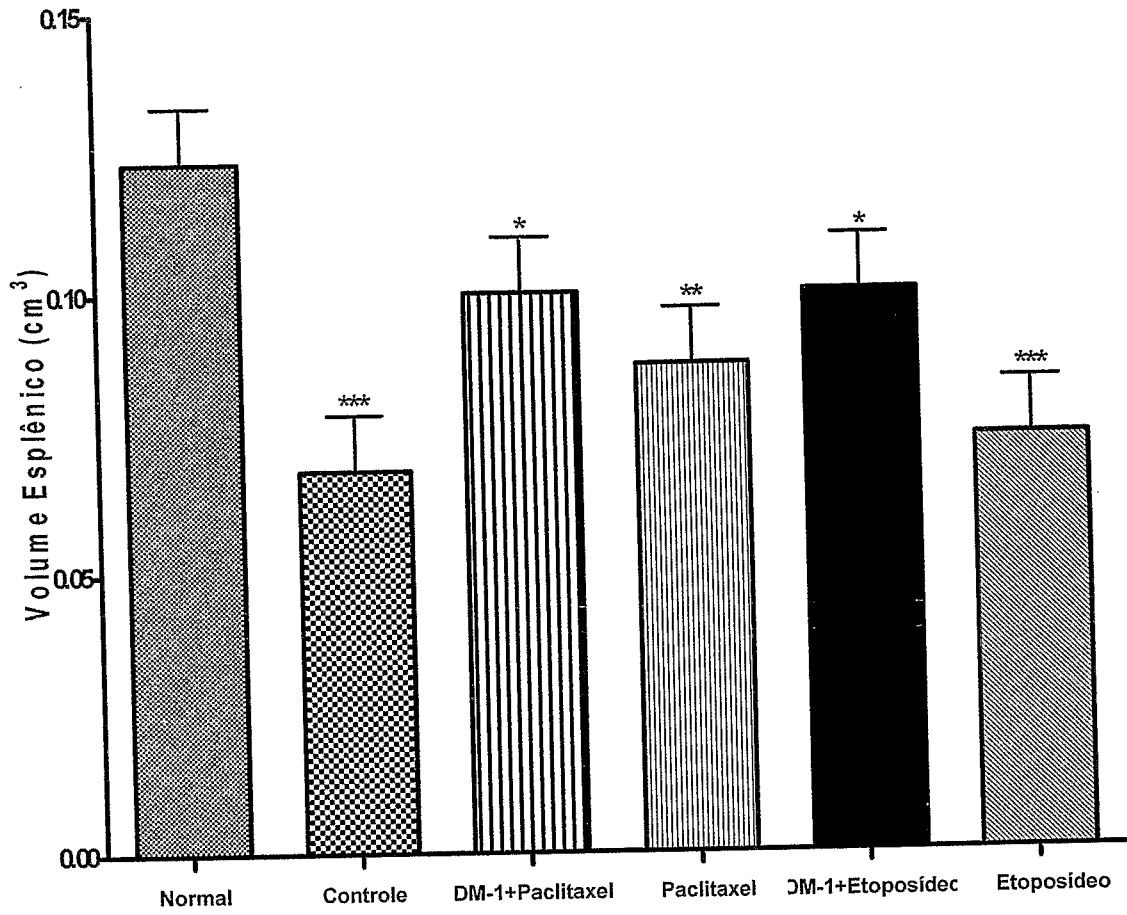


FIGURA 4

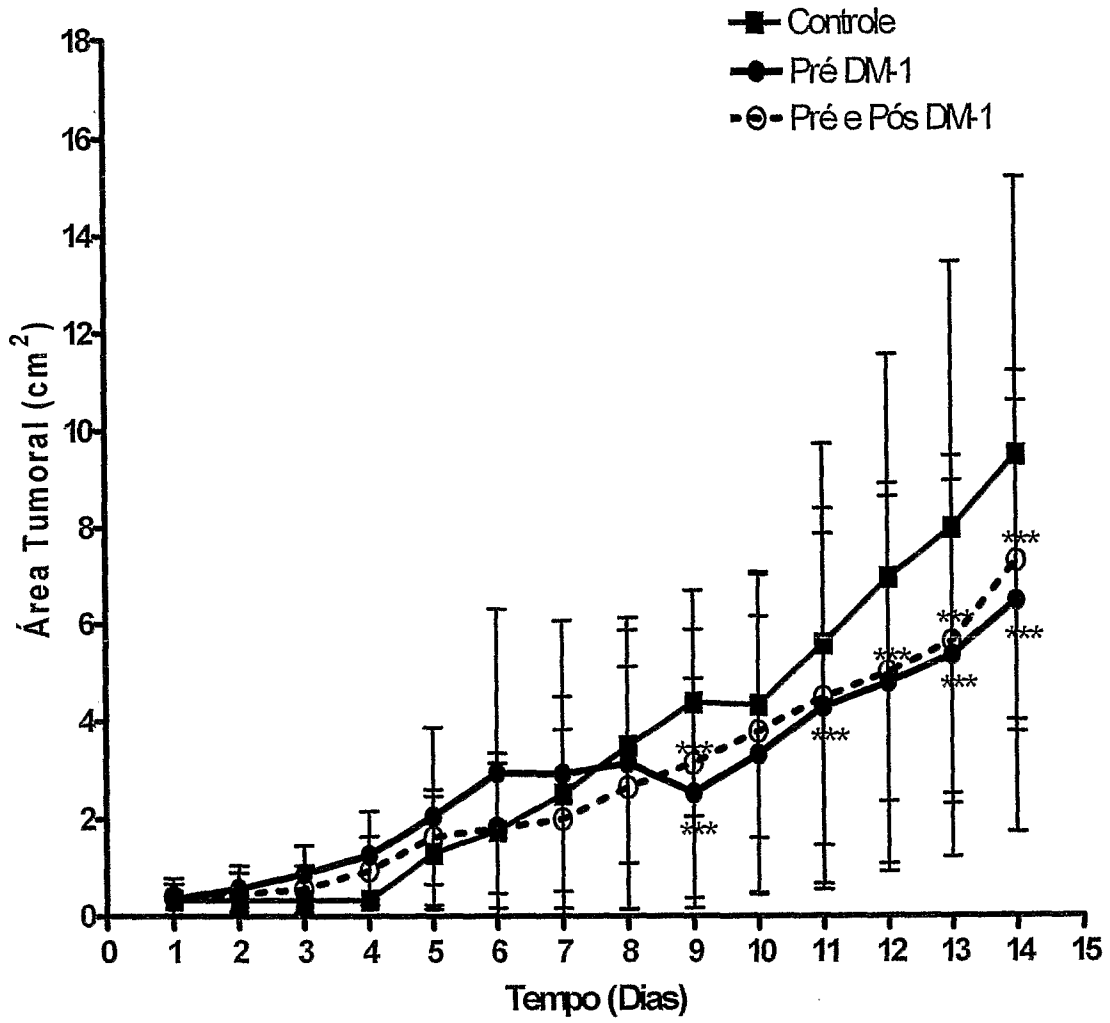


FIGURA 5

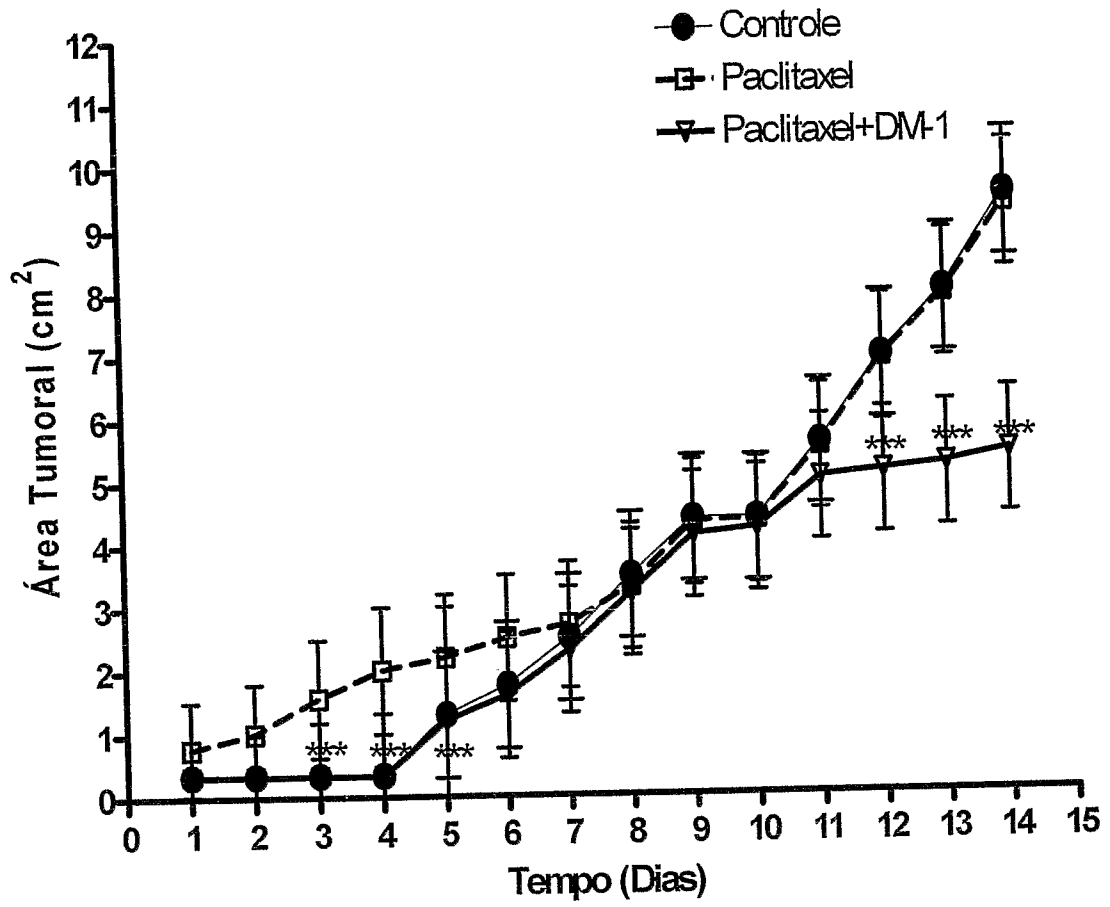


FIGURA 6

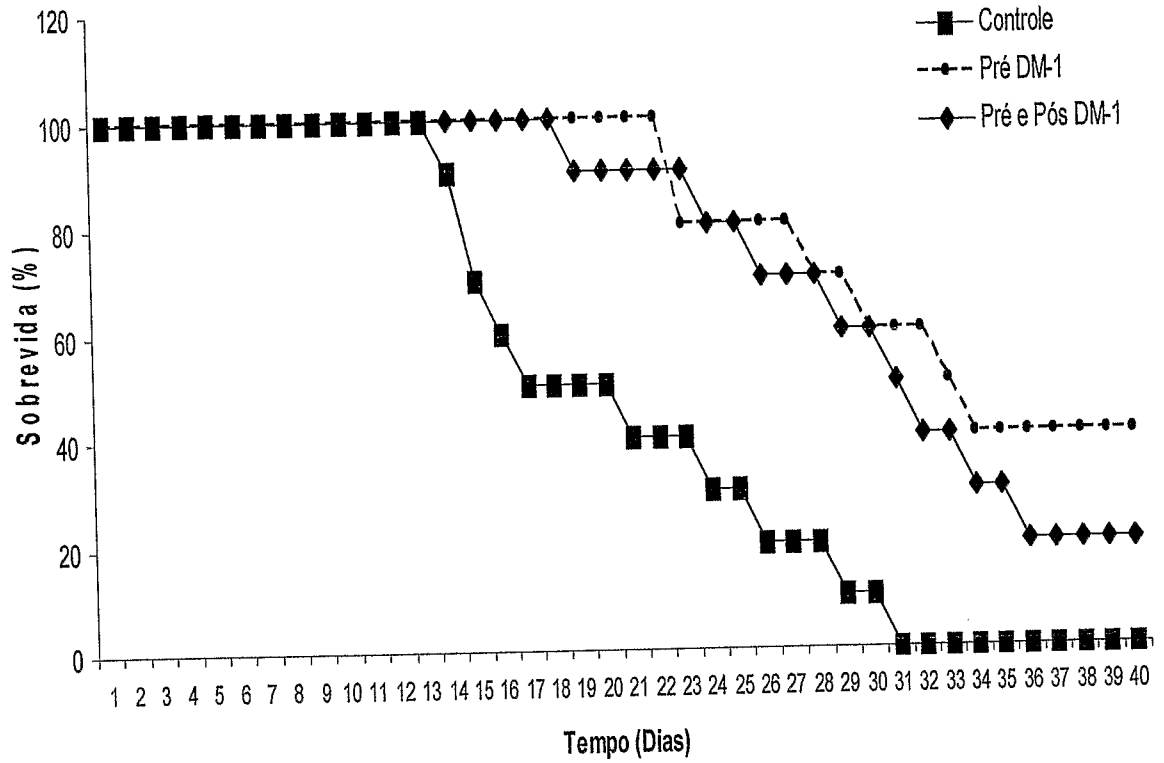


FIGURA 7

8/27

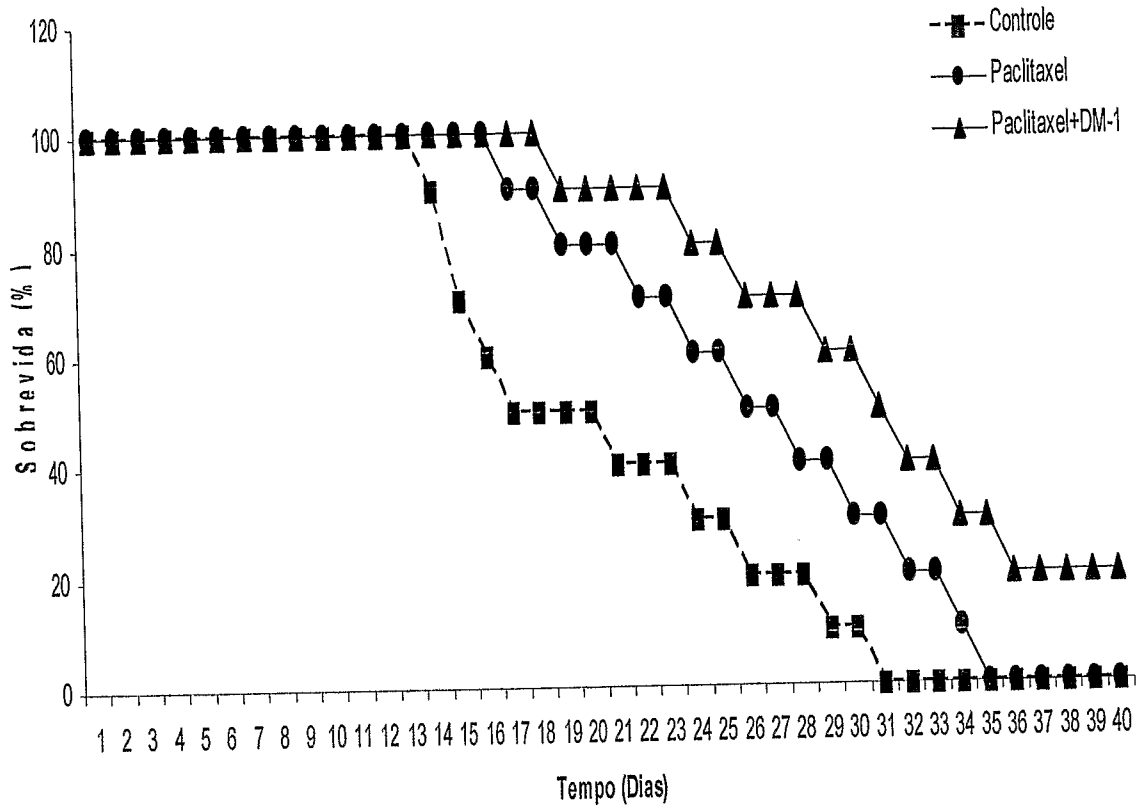


FIGURA 8

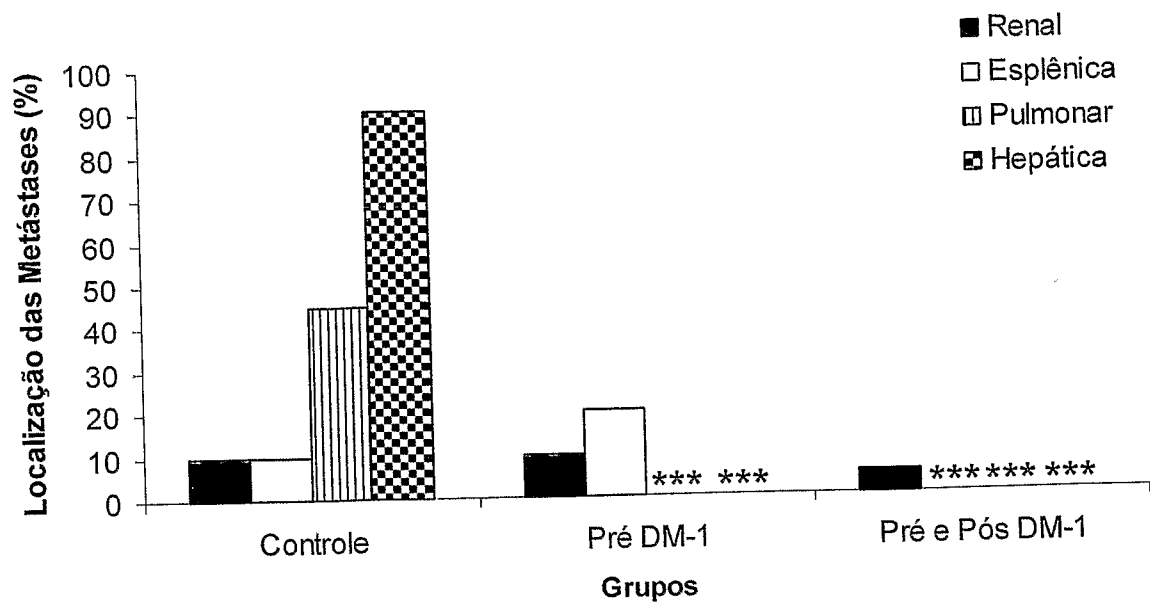


FIGURA 9

10/27

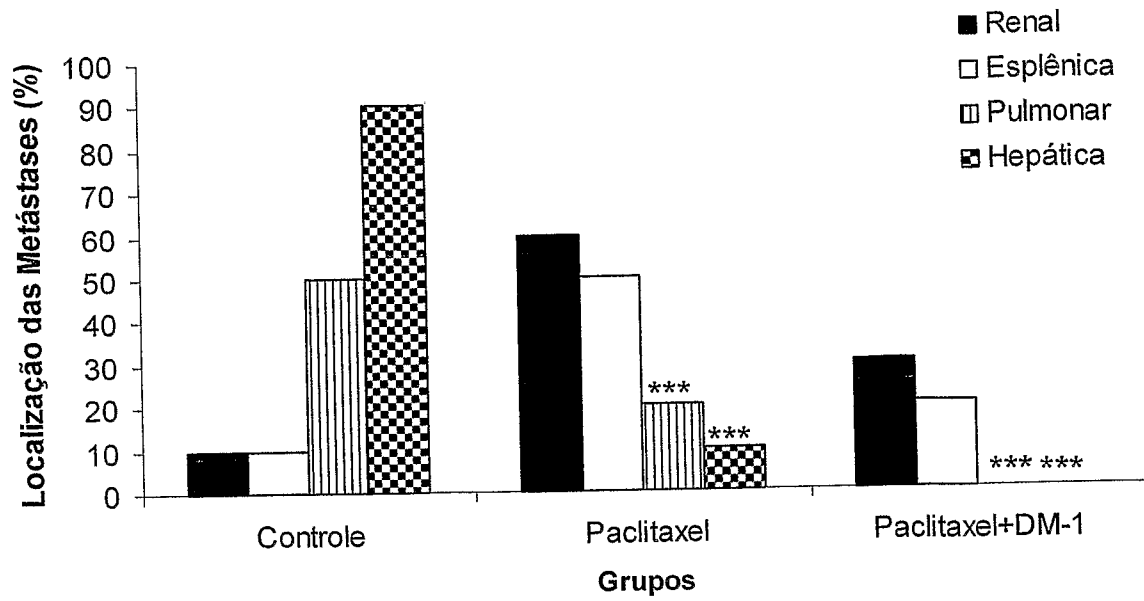


FIGURA 10

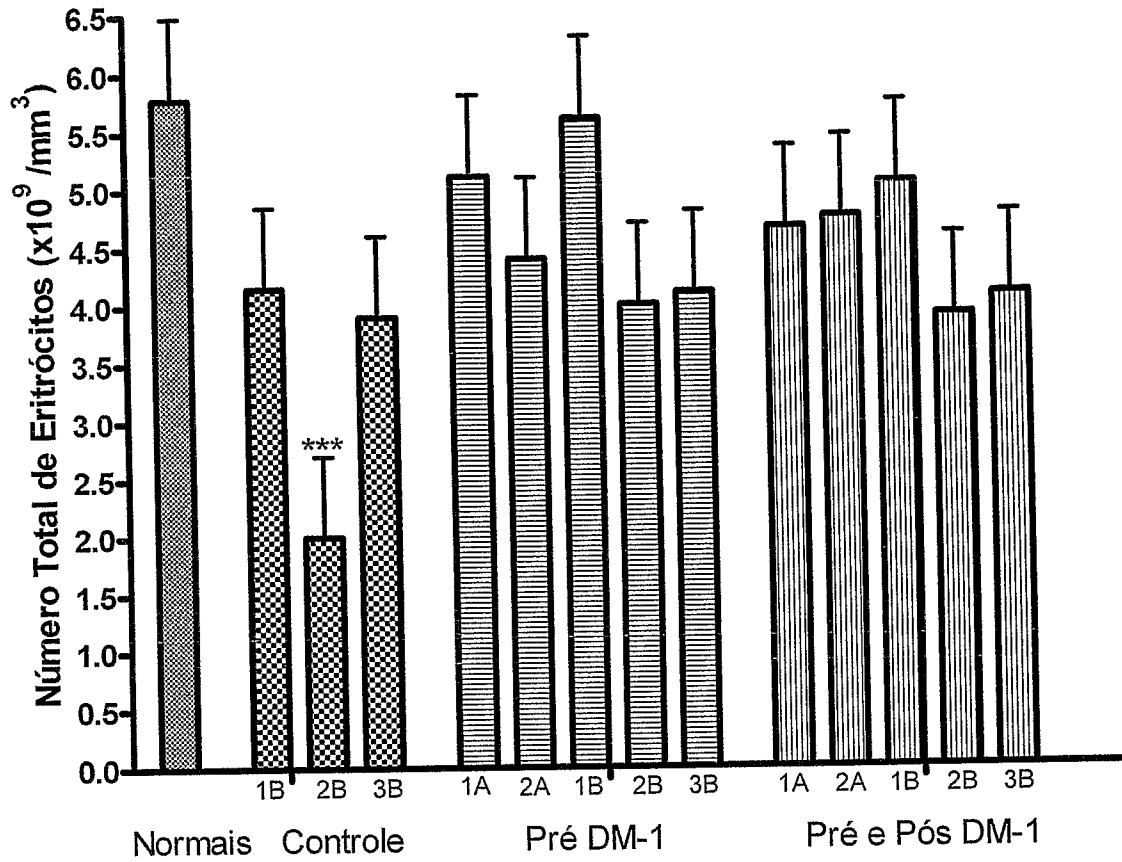


FIGURA 11

12/27

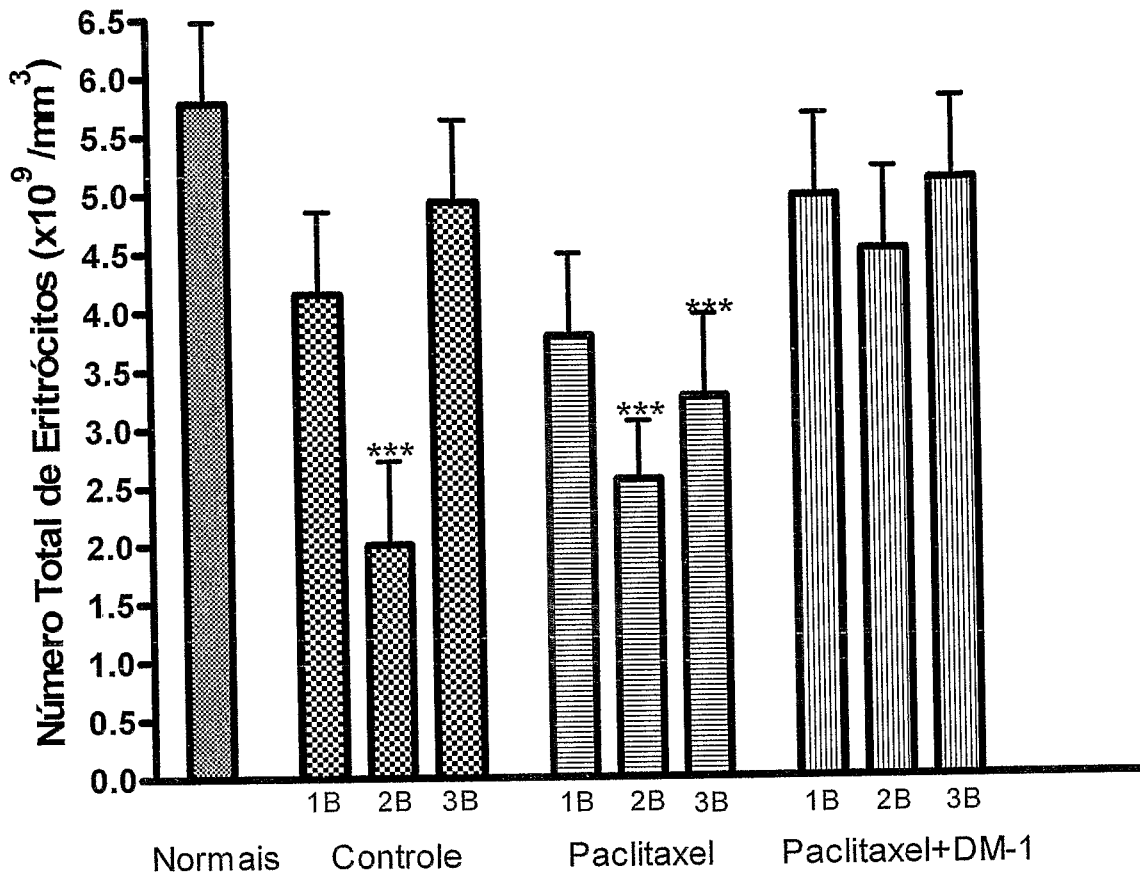


FIGURA 12

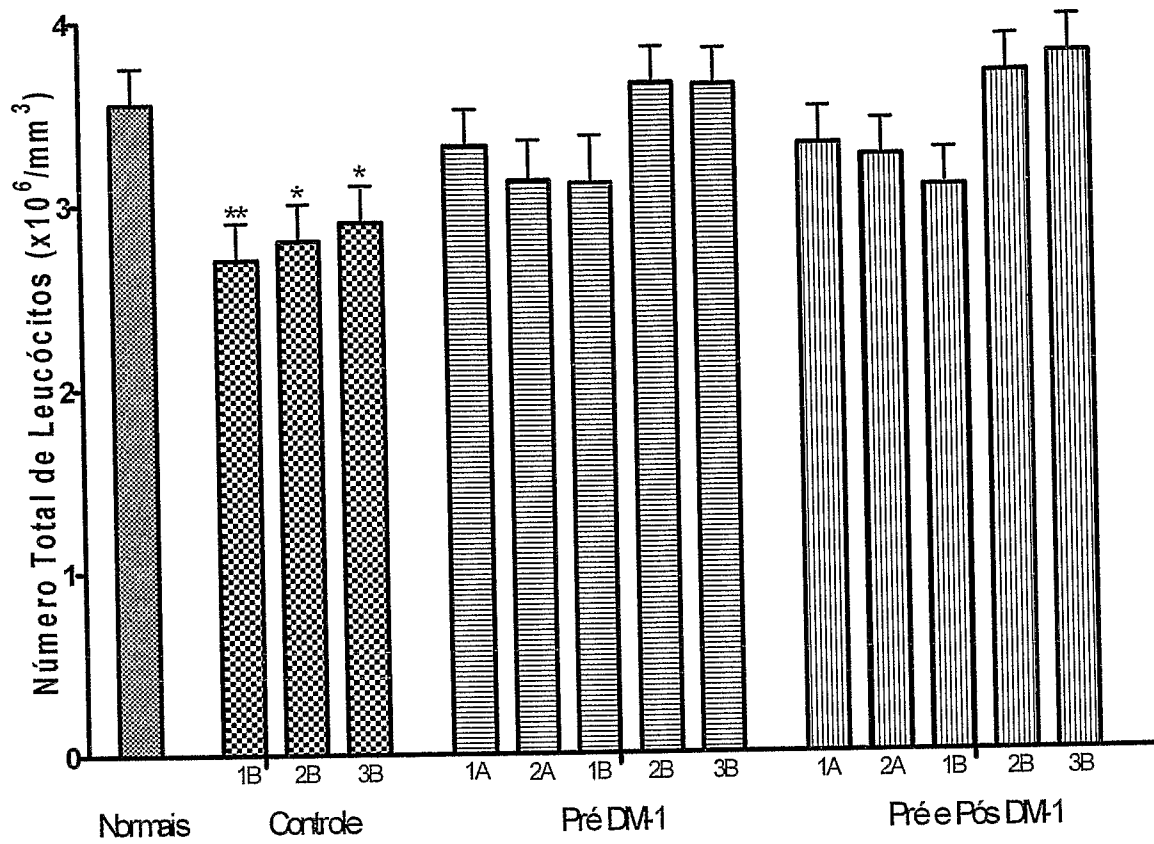


FIGURA 13

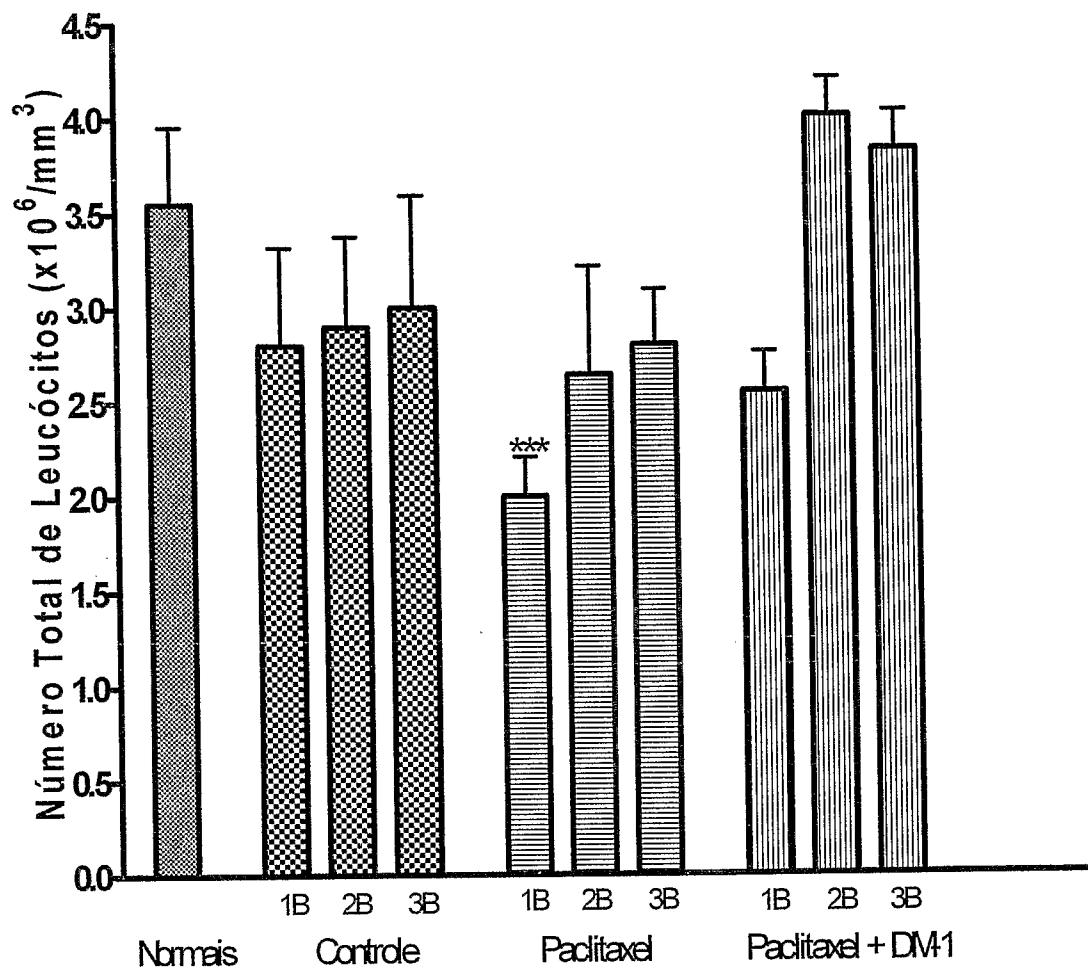


FIGURA 14

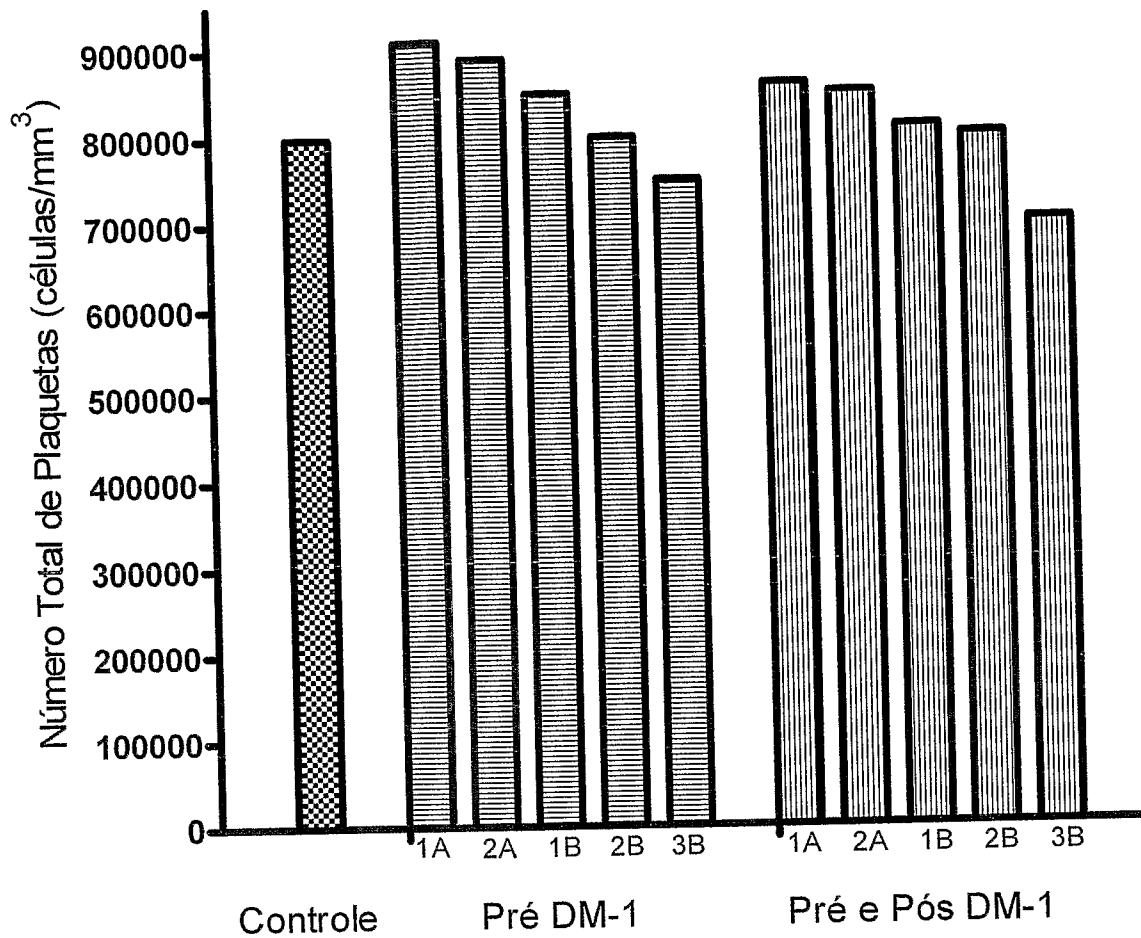


FIGURA 15

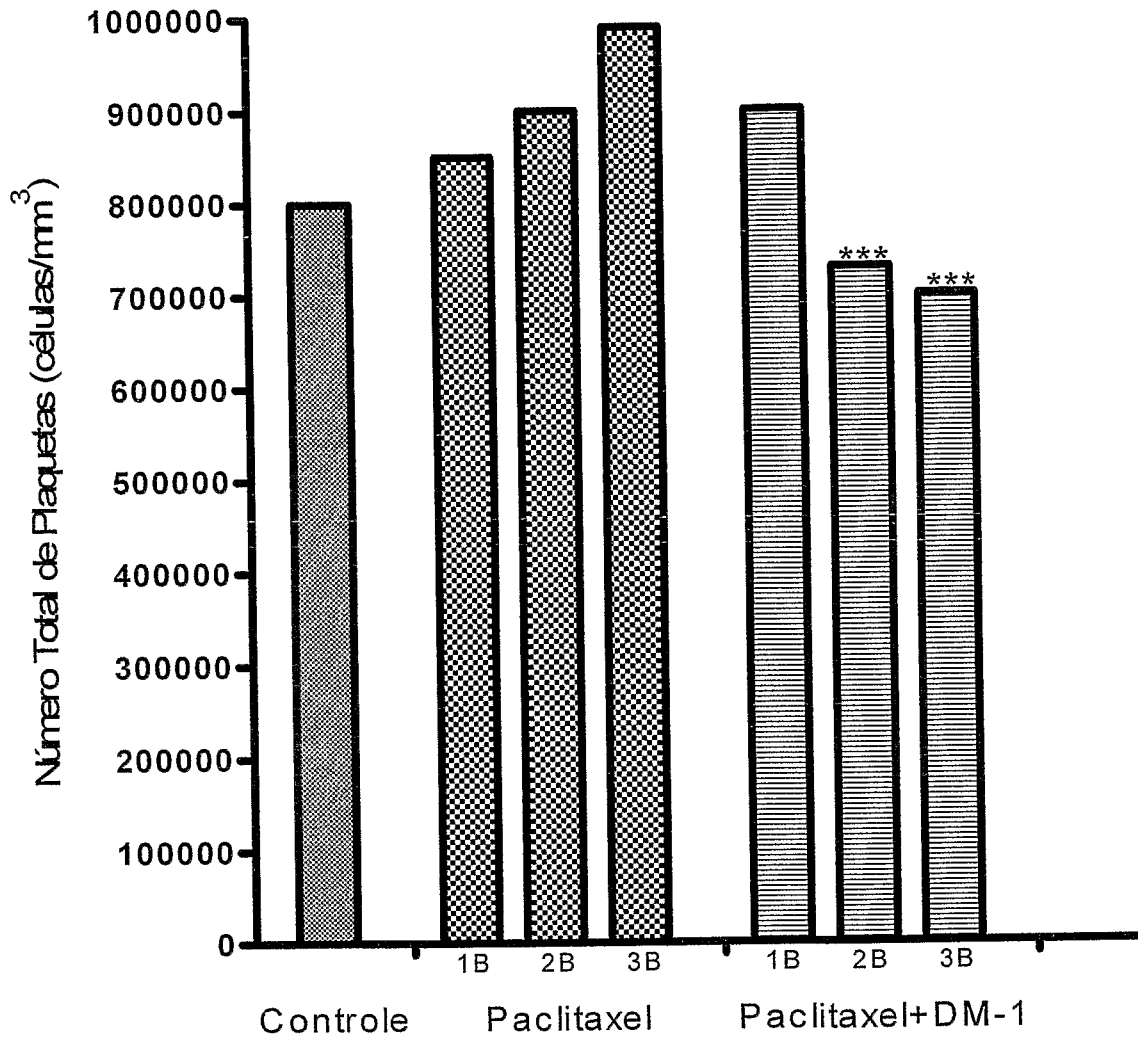


FIGURA 16

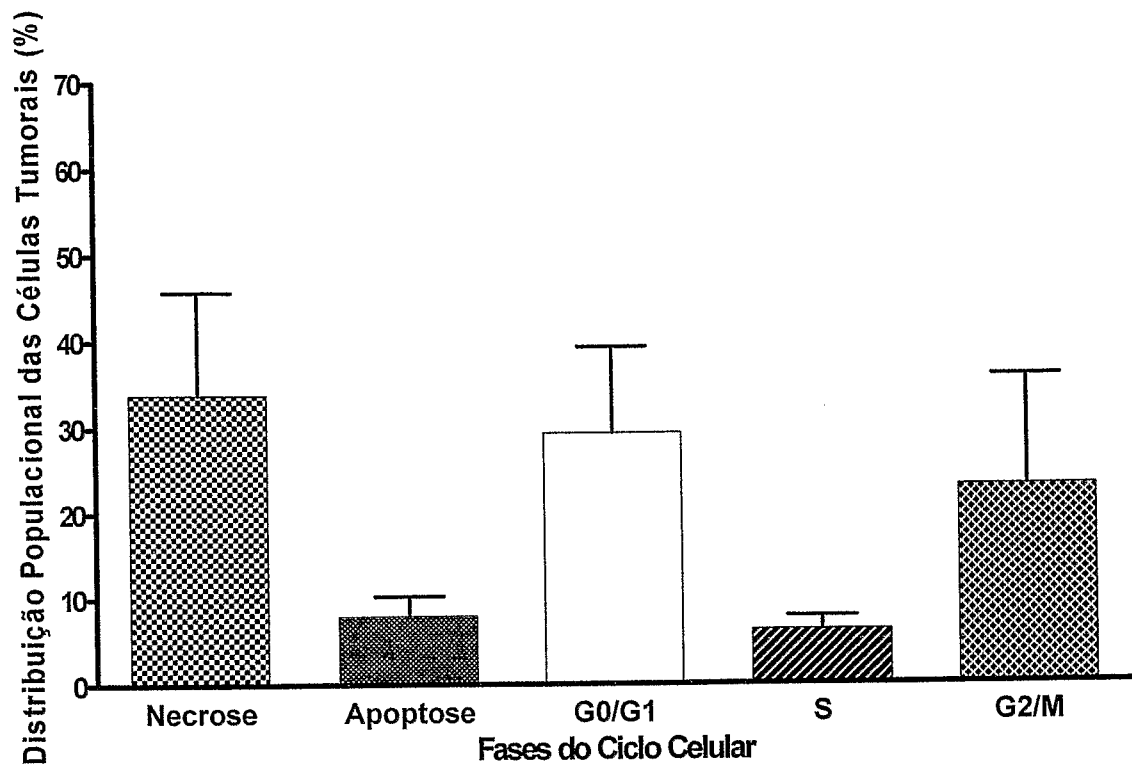


FIGURA 17

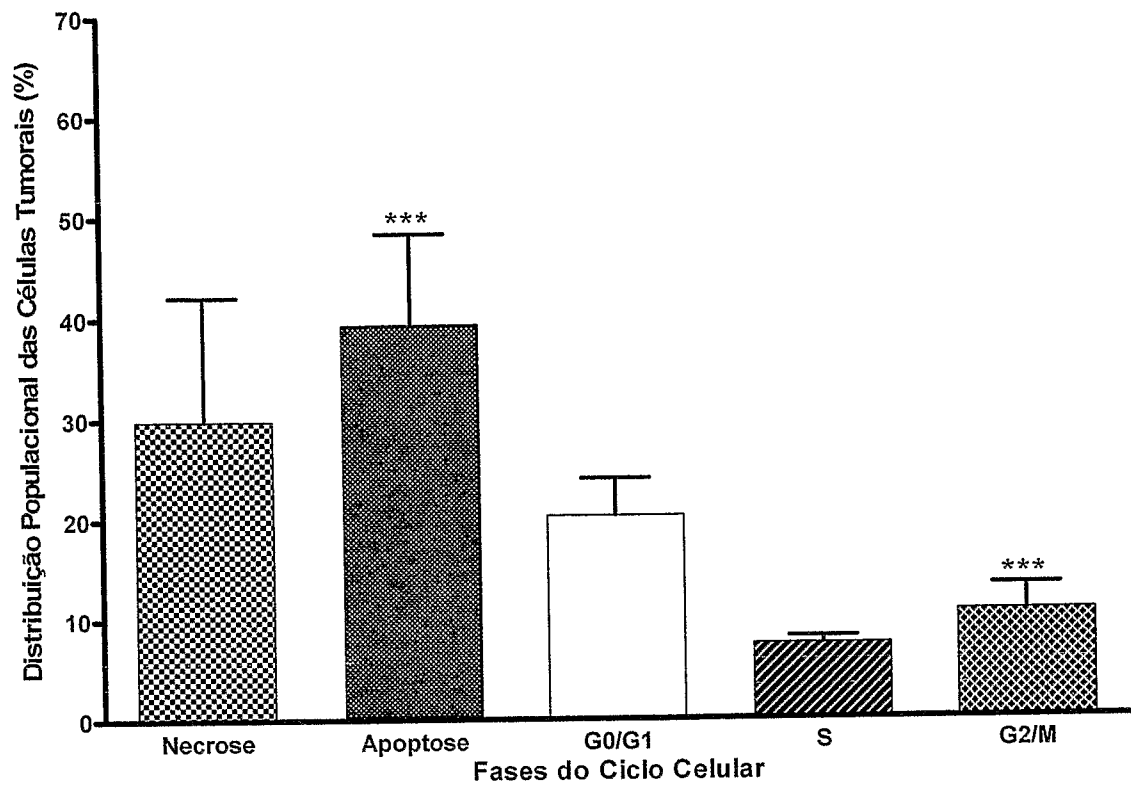


FIGURA 18

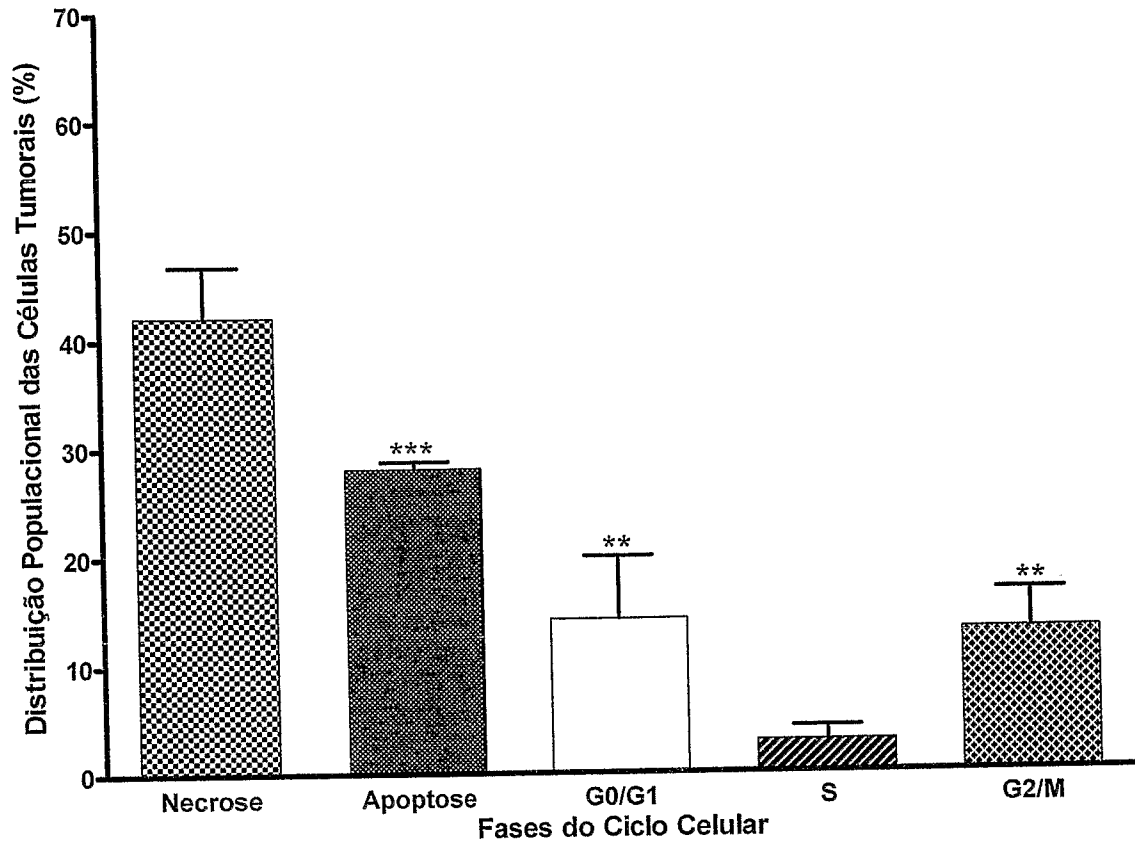


FIGURA 19

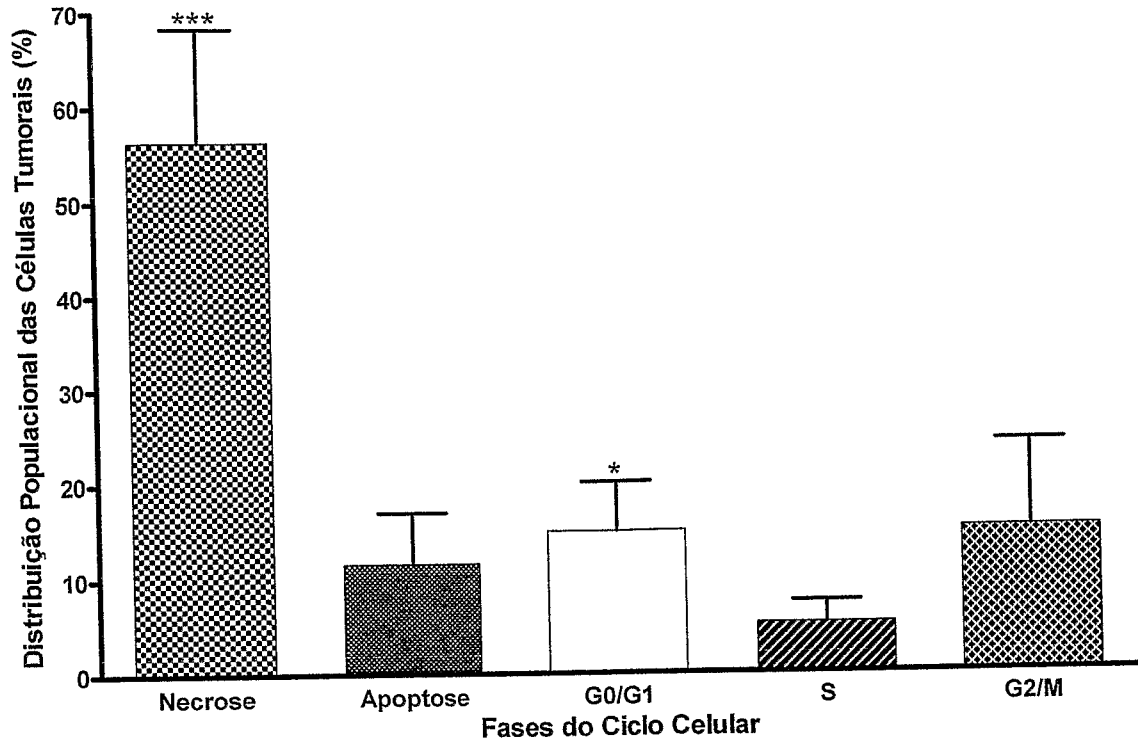


FIGURA 20

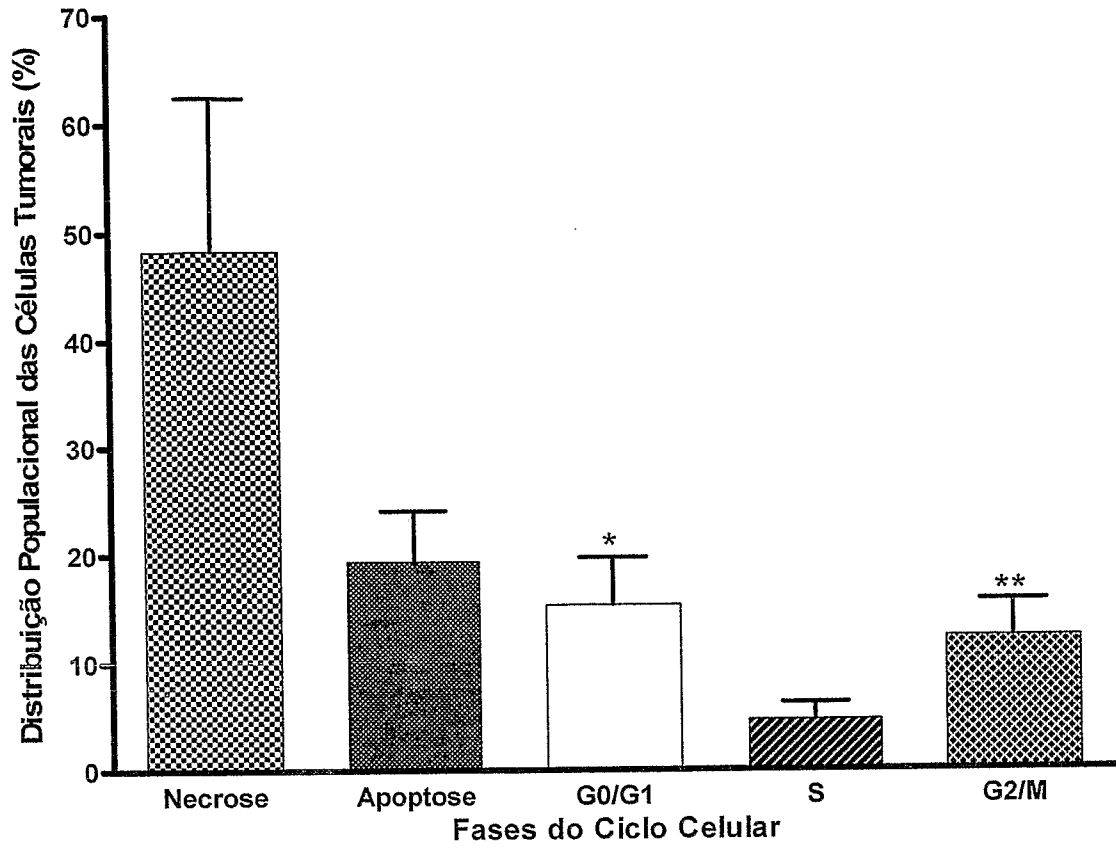


FIGURA 21

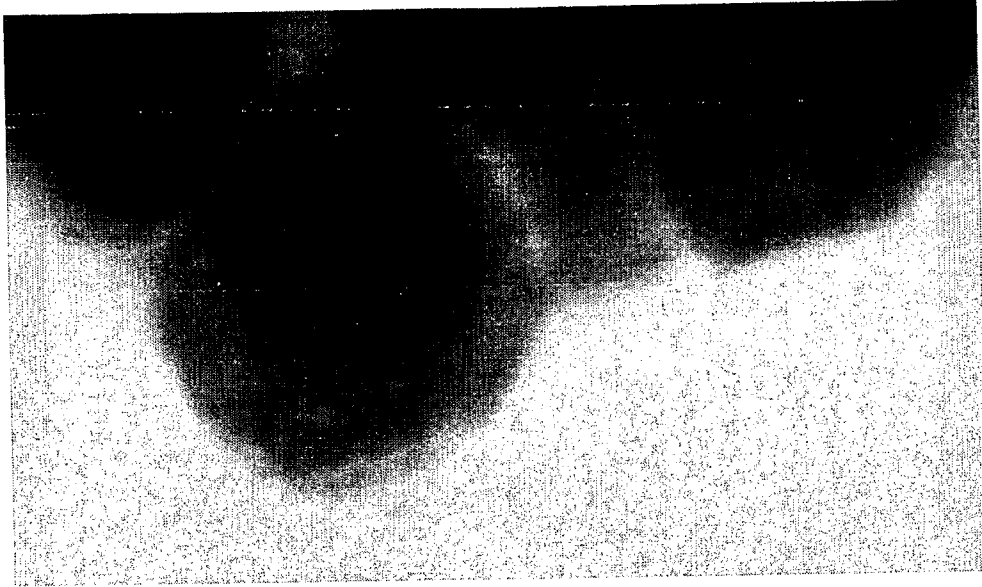


FIGURA 22

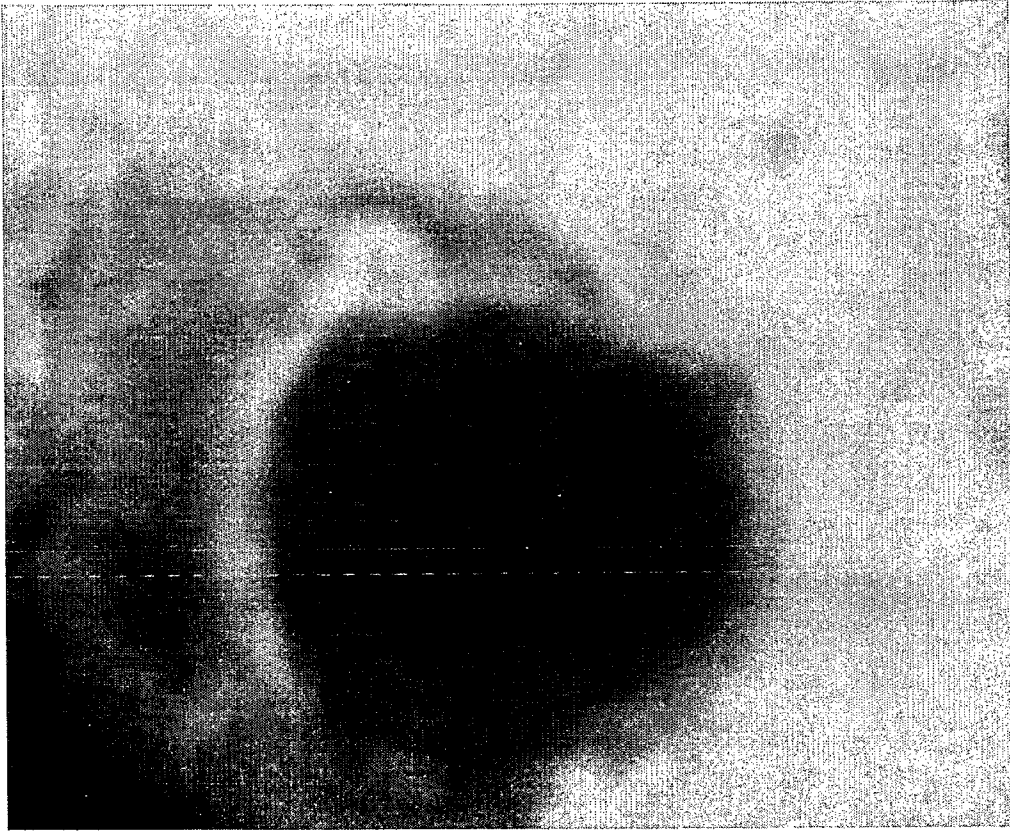


FIGURA 23

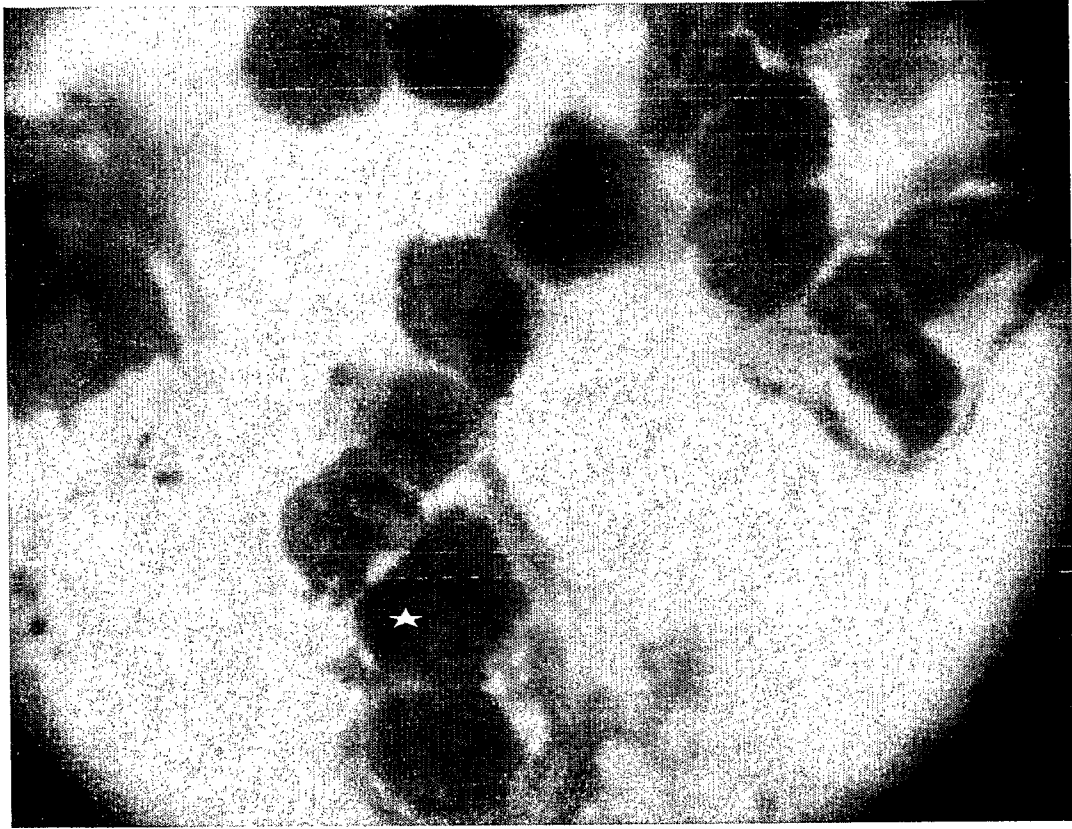


FIGURA 24

25/27

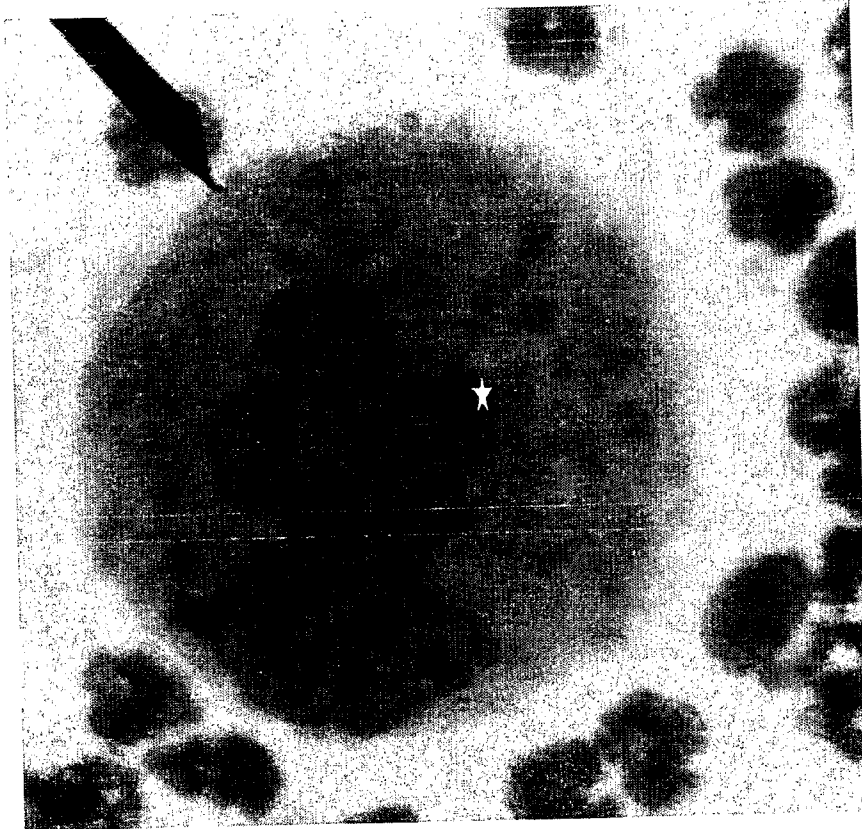


FIGURA 25

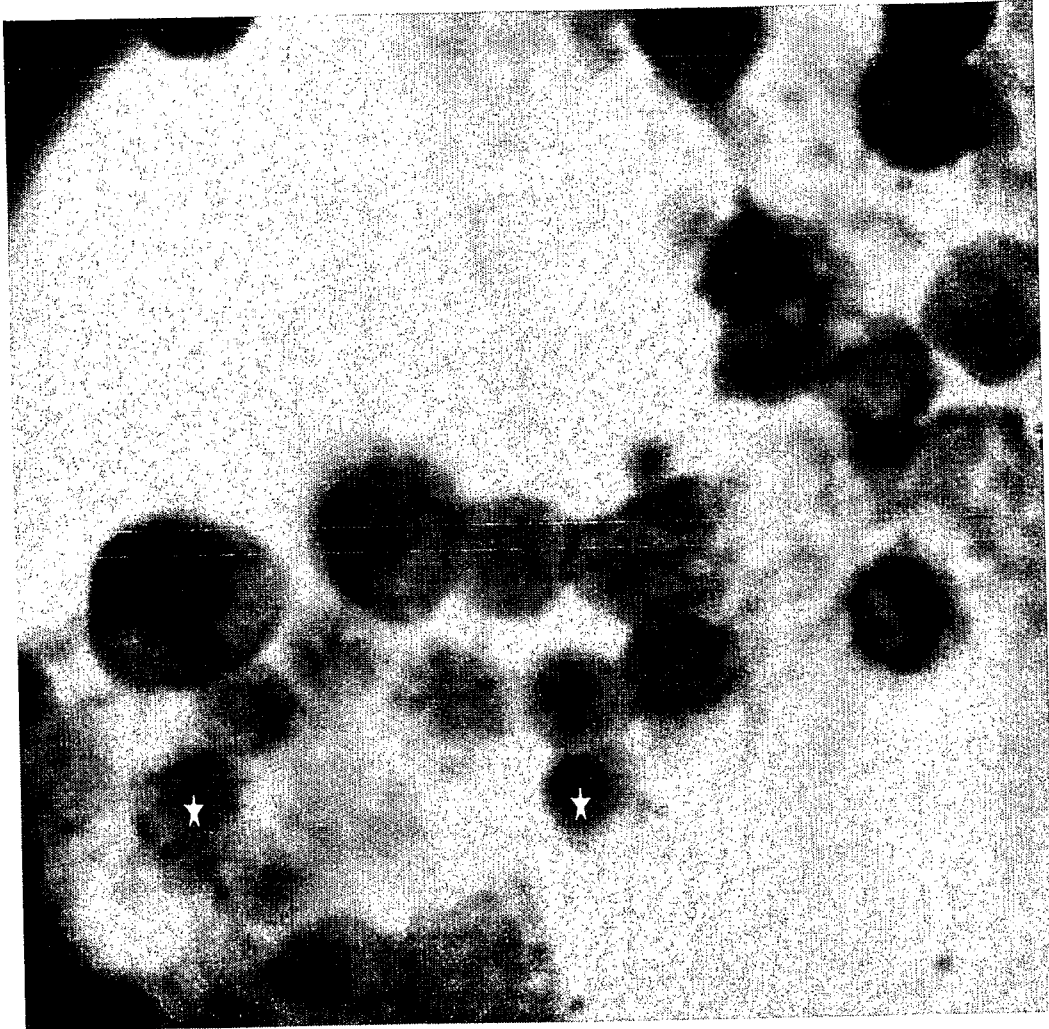


FIGURA 26



FIGURA 27

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/BR2009/000375

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC (2009.01) A61K31/121 A61K31/337 A61K31/7048 A61K31/675 A61P35/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC (2009.01) A61K A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPODOC, WPI, Chemical Abstracts, Medline, Embase

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2008003155 A2 (DE SOUZA PAMELA OLIVEIRA [BR]) 10 January 2008 (2008-01-10)	9 - 13
X	WO 0140188 A1 (SUNAY USTUN B [US]) 07 June 2001 (2001-06-07)	1 - 13
X	US 2007010488 A1 11 January 2007 (2007-01-11)	9 - 13
Y	WO 2006044379 A2 (CHANG CHAWNSHANG [US]) 27 April 2006 (2006-04-27)	9 - 13
Y	US 2006258752 A1 16 November 2006 (2006-11-16)	9 - 13

 Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

11 January 2010

Date of mailing of the international search report

15/01/2010

Name and mailing address of the ISA/



INSTITUTO NACIONAL DA
 PROPRIEDADE INDUSTRIAL
 Rua Mayrink Veiga nº 9, 18º andar
 cep: 20090-050, Centro - Rio de Janeiro/RJ
 +55 21 2139-3663

LNº de fax:

Authorized officer

Fabio Monteiro dos Santos

Telephone No.

+55 21 2139-3686/3742

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/BR2009/000375

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	<p>-----</p> <p>WO 2007075772 A2 (JAGTAP PRAKASH [US]) 05 julho 2007 (2007-07-05)</p> <p>-----</p>	
X	<p>FLORES F F; Pardi P.C.; Santos R.P.; Rando D.G.; Suárez J.A.P.Q.; Maria D.A. "Antiproliferative and antimetastatic activity of DM-1, sodium 4-[5-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-3-oxo-penta-1,4-dienyl]-2-methoxy- phenolate, in B16F10 melanoma" APPLIED CANCER RESEARCH, vol. 28, nº 2, 2008, páginas 72-79.</p> <p>-----</p>	
Y	<p>BRIAN K. ^a; Ferstl E.M.; Davis M.C.; Herold M.; Kurtkaya S.; Camalier R.F.; Hollingshead M.G.; Kaur G.; Sausville E.A.; Rickles F.R.; Snyder J.P.; Liotta D.C.; Shiji M. "Synthesis and biological evaluation of novel curcumin analogs as anti-cancer and anti-angiogenesis agents" BIORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY, vol. 12, 2004, páginas 3871- 3883.</p>	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/BR2009/000375

Documentos de patente citados no relatório de pesquisa	Data de publicação	Membro(s) da família de patentes	Data de publicação
WO 2008003155 A2	2008-01-10	BR PI0602640 A	2008-02-26
		EP 2054365 A2	2009-05-06
		WO 2008003155 A3	2009-11-12
WO 0140188 A1	2001-06-07	AU 779230 B2	2005-01-13
		AU 1942801 A	2001-06-12
		AU 2005203131 A1	2005-08-11
		CA 2393440 A1	2001-06-07
		EP 1242379 A1	2002-09-25
		JP 2003515590 T	2003-05-07
		US 2002019382 A1	2002-02-14
		US 6664272 B2	2003-12-16
		US 2004176384 A1	2004-09-09
		US 7371766 B2	2008-05-13
		US 2008234320 A1	2008-09-25
		WO 0140188 A9	2002-07-25
		US 2007010488 A1	2007-01-11
WO 2006044379 A2	2006-04-27	AU 2003222087 A1	2003-11-03
		AU 2005295876 A1	2006-04-27
		AU 2008243284 A1	2008-12-11
		AU 2009215207 A1	2009-10-08
		CA 2482002 A1	2003-10-30
		CA 2583943 A1	2006-04-27
		CN 1646473 A	2005-07-27
		CN 101076336 A	2007-11-21
		EP 1494993 A2	2005-01-12
		EP 1799213 A2	2007-06-27
		JP 2005534626 T	2005-11-17
		JP 2008516954 T	2008-05-22
		MX PA04010180 A	2005-02-03
		NZ 535773 A	2007-01-26
		SG 141468 A1	2008-04-28
		US 2003203933 A1	2003-10-30
		US 6790979 B2	2004-09-14
US 2005187255 A1	2005-08-25		
US 7355081 B2	2008-04-08		
US 2008146660 A1	2008-06-19		
US 2008161391 A1	2008-07-03		
WO 03088927 A2	2003-10-30		
WO 2006044379 A3	2006-06-15		
US 2006258752 A1	2006-11-16	US 2006276536 A1	2006-12-07
		US 2007060644 A1	2007-03-15
WO 2007075772 A2	2007-07-05	AU 2006331754 A1	2007-07-05
		CA 2633500 A1	2007-07-05
		EP 1968583 A2	2008-09-17
		JP 2009521454 T	2009-06-04
		WO 2007075772 A3	2009-02-19

RELATÓRIO DE PESQUISA INTERNACIONAL

Depósito internacional N°

PCT/BR2009/000375

A. CLASSIFICAÇÃO DO OBJETO

IPC (2009.01) A61K31/121 A61K31/337 A61K31/7048 A61K31/675 A61P35/00

De acordo com a Classificação Internacional de Patentes (IPC) ou conforme a classificação nacional e IPC

B. DOMÍNIOS ABRANGIDOS PELA PESQUISA

Documentação mínima pesquisada (sistema de classificação seguido pelo símbolo da classificação)

IPC (2009.01) A61K A61P

Documentação adicional pesquisada, além da mínima, na medida em que tais documentos estão incluídos nos domínios pesquisados

Base de dados eletrônica consultada durante a pesquisa internacional (nome da base de dados e, se necessário, termos usados na pesquisa)

EPODOC, WPI, Chemical Abstracts, Medline, Embase

C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoria*	Documentos citados, com indicação de partes relevantes, se apropriado	Relevante para as reivindicações N°
X	WO 2008003155 A2 (DE SOUZA PAMELA OLIVEIRA [BR]) 10 janeiro 2008 (2008-01-10)	9 - 13
X	WO 0140188 A1 (SUNAY USTUN B [US]) 07 junho 2001 (2001-06-07)	1 - 13
X	US 2007010488 A1 11 janeiro 2007 (2007-01-11)	9 - 13
Y	WO 2006044379 A2 (CHANG CHAWNSHANG [US]) 27 abril 2006 (2006-04-27)	9 - 13
Y	US 2006258752 A1 16 novembro 2006 (2006-11-16)	9 - 13

 Documentos adicionais estão listados na continuação do quadro C Ver o anexo de famílias das patentes

* Categorias especiais dos documentos citados:

"A" documento que define o estado geral da técnica, mas não é considerado de particular relevância.

"E" pedido ou patente anterior, mas publicada após ou na data do depósito internacional

"L" documento que pode lançar dúvida na(s) reivindicação(ões) de prioridade ou na qual é citado para determinar a data de outra citação ou por outra razão especial

"O" documento referente a uma divulgação oral, uso, exibição ou por outros meios.

"P" documento publicado antes do depósito internacional, porém posterior a data de prioridade reivindicada.

"T" documento publicado depois da data de depósito internacional, ou de prioridade e que não confira como depósito, porém citado para entender o princípio ou teoria na qual se baseia a invenção.

"X" documento de particular relevância; a invenção reivindicada não pode ser considerada nova e não pode ser considerada envolver uma atividade inventiva quando o documento é considerado isoladamente.

"Y" documento de particular relevância; a invenção reivindicada não pode ser considerada envolver atividade inventiva quando o documento é combinado com um outro documento ou mais de um, tal combinação sendo óbvia para um técnico no assunto.

"&" documento membro da mesma família de patentes.

Data da conclusão da pesquisa internacional

11 janeiro 2010

Data do envio do relatório de pesquisa internacional:

15/01/2010

Nome e endereço postal da ISA/BR



INSTITUTO NACIONAL DA
 PROPRIEDADE INDUSTRIAL
 Rua Mayrink Veiga nº 9, 18º andar
 cep: 20090-050, Centro - Rio de Janeiro/RJ
 +55 21 2139-3663

N° de fax:

Funcionário autorizado

Fabio Monteiro dos Santos

N° de telefone:

+55 21 2139-3686/3742

C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoria*	Documentos citados, com indicação de partes relevantes, se apropriado	Relevante para as reivindicações N°
Y	<p style="text-align: center;">-----</p> <p>WO 2007075772 A2 (JAGTAP PRAKASH [US]) 05 julho 2007 (2007-07-05)</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	9 - 13
X	<p>FLORES F F; Pardi P.C.; Santos R.P.; Rando D.G.; Suárez J.A.P.Q.; Maria D.A. "Antiproliferative and antimetastatic activity of DM-1, sodium 4-[5-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-3-oxo-penta-1,4-dienyl]-2-methoxy- phenolate, in B16F10 melanoma" APPLIED CANCER RESEARCH, vol. 28, nº 2, 2008, páginas 72-79.</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	9 - 13
Y	<p>BRIAN K. ^a; Ferstl E.M.; Davis M.C.; Herold M.; Kurtkaya S.; Camalier R.F.; Hollingshead M.G.; Kaur G.; Sausville E.A.; Rickles F.R.; Snyder J.P.; Liotta D.C.; Shiji M. " Synthesis and biological evaluation of novel curcumin analogs as anti-cancer and anti-angiogenesis agents" BIORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY, vol. 12, 2004, páginas 3871- 3883.</p>	9 - 13

RELATÓRIO DE PESQUISA INTERNACIONAL
 Informação relativa a membros da família da patentes

Depósito internacional Nº

PCT/BR2009/000375

Documentos de patente citados no relatório de pesquisa	Data de publicação	Membro(s) da família de patentes	Data de publicação
WO 2008003155 A2	2008-01-10	BR PI0602640 A EP 2054365 A2 WO 2008003155 A3	2008-02-26 2009-05-06 2009-11-12
WO 0140188 A1	2001-06-07	AU 779230 B2 AU 1942801 A AU 2005203131 A1 CA 2393440 A1 EP 1242379 A1 JP 2003515590 T US 2002019382 A1 US 6664272 B2 US 2004176384 A1 US 7371766 B2 US 2008234320 A1 WO 0140188 A9	2005-01-13 2001-06-12 2005-08-11 2001-06-07 2002-09-25 2003-05-07 2002-02-14 2003-12-16 2004-09-09 2008-05-13 2008-09-25 2002-07-25
US 2007010488 A1	2007-01-11	WO 2007007207 A2	2007-01-18
WO 2006044379 A2	2006-04-27	AU 2003222087 A1 AU 2005295876 A1 AU 2008243284 A1 AU 2009215207 A1 CA 2482002 A1 CA 2583943 A1 CN 1646473 A CN 101076336 A EP 1494993 A2 EP 1799213 A2 JP 2005534626 T JP 2008516954 T MX PA04010180 A NZ 535773 A SG 141468 A1 US 2003203933 A1 US 6790979 B2 US 2005187255 A1 US 7355081 B2 US 2008146660 A1 US 2008161391 A1 WO 03088927 A2 WO 2006044379 A3	2003-11-03 2006-04-27 2008-12-11 2009-10-08 2003-10-30 2006-04-27 2005-07-27 2007-11-21 2005-01-12 2007-06-27 2005-11-17 2008-05-22 2005-02-03 2007-01-26 2008-04-28 2003-10-30 2004-09-14 2005-08-25 2008-04-08 2008-06-19 2008-07-03 2003-10-30 2006-06-15
US 2006258752 A1	2006-11-16	US 2006276536 A1 US 2007060644 A1	2006-12-07 2007-03-15
WO 2007075772 A2	2007-07-05	AU 2006331754 A1 CA 2633500 A1 EP 1968583 A2 JP 2009521454 T WO 2007075772 A3	2007-07-05 2007-07-05 2008-09-17 2009-06-04 2009-02-19