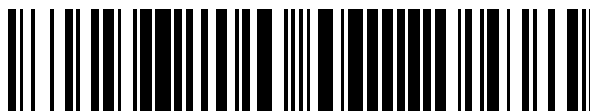


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 562 807**

51 Int. Cl.:

A61K 31/745 (2006.01)

A61K 31/01 (2006.01)

A61K 31/015 (2006.01)

A61P 17/02 (2006.01)

A61P 17/06 (2006.01)

A61P 17/10 (2006.01)

A61P 25/18 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

A61P 25/16 (2006.01)

A61K 31/765 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.10.2010** **E 10826225 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.01.2016** **EP 2493461**

54 Título: **Monoterpenos poliméricos para tratar la función neurológica alterada**

30 Prioridad:

28.10.2009 US 272737 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

08.03.2016

73 Titular/es:

**REGENERA PHARMA LTD. (100.0%)
8 Menachem Plaut Street Tamar Park
76326 Rehovot, IL**

72 Inventor/es:

HAZAN, ZADIK

74 Agente/Representante:

CAMPELLO ESTEBARANZ, Reyes

ES 2 562 807 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Monoterpenos poliméricos para tratar la función neurológica alterada.

5 CAMPO DE LA INVENCION

La invención se refiere a usos terapéuticos de formas poliméricas de los compuestos de monoterpeno alocimeno, limoneno, α -pineno, β -pineno, acetato de geranilo, 3-careno y 2-careno, es decir, a una composición que comprende formas poliméricas aisladas de monoterpenos en un vehículo adecuado para su uso en el tratamiento de la función neurológica alterada.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Se han aislado diversos monoterpenos a partir de fuentes vegetales y/o se han sintetizado químicamente. Se han descrito usos de monoterpenos en productos alimenticios, perfumería, productos higiénicos y agroquímicos.

La Publicación de Solicitud de Patente de Estados Unidos Nº 2004/052922 se refiere a composiciones farmacéuticas y dietéticas, así como a productos alimenticios funcionales útiles como coadyuvantes tanto para tratar como prevenir los procesos del envejecimiento y afecciones relacionadas: aterosclerosis, hipertensión, diabetes, tumores, obesidad y sobrepeso, hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia, envejecimiento de la piel, alopecia, paniculopatía (celulitis), osteoporosis, envejecimiento cerebral (Alzheimer, Parkinson, demencia senil, etc.) y pérdida de memoria, estrés, depresión, síndromes menopáusicos, hipertrofia prostática benigna, etc. Dichas composiciones comprenden: a) una mezcla lipídica rica en ácidos poliinsaturados y vitaminas, junto con al menos dos componentes seleccionados; b) uno o más terpenos seleccionados entre monoterpenos y/o sesquiterpenos; c) 1-piperoilpiperidina en la forma pura y/o extractos o fracciones purificadas enriquecidas en pimienta negra que las contienen; o d) uno o más policosanoles y/o ácidos policosanólicos.

La Patente de Estados Unidos Nº 7.780.974 desvela compuestos de saponina que comprende un resto de triterpeno, que es típicamente un ácido acácico u oleanólico, y que comprende adicionalmente un resto de monoterpeno, tal como ácido trans-2-hidroximetil-6-metil-6-hidroxi-2,7-octadienoico o trans-2,6-dimetil-6-hidroxi-2,7-octadienoico. Se desvela adicionalmente el uso de los compuestos para endoprótesis vasculares recubiertas, el uso de los mismos para la terapia de reestenosis, y la actividad de los compuestos como agentes antiinflamatorios y antiestrés y para prevenir una proliferación anormal de células epiteliales mamíferas.

La Patente de Estados Unidos Nº 6.063.383 desvela un compuesto de supositorio farmacéutico para el tratamiento de la fiebre y la gripe que comprende aceite volátil de radix bupleuri scorzonifolium salvaje, en el que dicho aceite volátil contiene diversos compuestos de terpeno, tales como β -terpineno, camfeno, β -fencheno, pulegona, isoborneol, β -terpineol, linalool, α -copaeno, humuleno, α -farneseno, aromadendreno, cis-cariofileno, iso-cariofileno, entre otros.

La Publicación de Solicitud de Patente de Estados Unidos Nº 2009/0304799 desvela una vacuna de nanoemulsión para la gripe que comprende un aceite volátil, entre otros, un monoterpeno.

La Publicación de Solicitud de Patente de Estados Unidos Nº 2006/0222723 desvela una composición de sustancias basadas en terpeno obtenidas a partir de resinas naturales, tales como resina de olíbano, resina de mirra y resina de Dacryoides klaineana. De acuerdo con la divulgación, una fracción de sesquiterpeno de Dacryoides puede contener oligómeros o polímeros de sesquiterpenos y monoterpenos. La composición es aparentemente útil para el tratamiento de enfermedades del sistema nervioso central y periférico, entre otros, ansiedad, depresión, epilepsia, esquizofrenia, enfermedad de Parkinson, esclerosis múltiple, enfermedad de Alzheimer, esclerosis lateral amiotrófica, drogodependencia y tumor cerebral.

La Publicación de Solicitud de Patente de Estados Unidos Nº 2006/0104997 desvela una composición farmacéutica que comprende: un monoterpeno o un derivado del mismo, uno o más tensioactivos, y opcionalmente uno o más codisolventes, y uso de los mismos para tratar una enfermedad neoplásica. De acuerdo con la divulgación, el monoterpeno puede ser alcohol perílico (1-hidroximetil-4-isopropenil-1-ciclohexeno), (R)-1-metil-4-(1-metiletenil)ciclohexeno (d-limoneno), 1-metil-4-hidroxipropil-1-ciclohexeno (α -terpineol), carveol, carvona, dihidrocarveol, dihidrocarvona, pulegona, isopulegol, mentol, mentona, terpinen-4-ol, sobrerol, óxido de limoneno, uroterpenol, perilaldehído, ácido dihidroperílico, éster metílico del ácido dihidroperílico, β -mirceno, ácido perílico-8,9-OH, α -pineno, linalool o ácido perílico, entre otros.

El documento WO 2004/066912 desvela un método para tratar una afección médica asociada a la inflamación, que comprende administrar un compuesto, entre otros, un monoterpeno tal como citranelol, geraniol, nerol, linalool, citral, carvona, pulegona, limoneno, mirceno, α -terpineno, γ -terpineno, terpinoleno, carena, terpinol, α -terpinol, α -tujeno, α -pineno y β -pineno, entre otros. De acuerdo con la divulgación, la enfermedad puede ser una enfermedad neurológica

inflamatoria, entre otras, esclerosis múltiple, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, miastenia gravis, neuropatía motora y síndrome de Guillain-Barre.

5 El documento WO 2002/051395 desvela un método para aumentar la diferenciación de células neuronales mamíferas y para aliviar una enfermedad neurodegenerativa, entre otras, enfermedad de Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica o enfermedad de Alzheimer, que comprende el uso de un gran número de compuestos diol C3-C50, entre otros, (1R)-2-pineno-10-ol.

10 El documento WO 2008/070783 desvela una composición que comprende un gingerol, y que comprende adicionalmente un aceite esencial, entre otros, felandreno, limoneno o β -pineno. Se desvela adicionalmente el uso de la composición para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer y la enfermedad de Parkinson y para la protección de la piel.

15 El documento WO 1998/000168 desvela una composición que comprende un compuesto antihistamínico aplicable por vía tópica junto con un compuesto terpenoide, entre otro, 3-careno o limoneno para el tratamiento tópico de enfermedades de la piel alérgicas e inflamatorias.

20 La Publicación de Solicitud de Patente de Estados Unidos Nº 2008/0121139 desvela un revestimiento que comprende un polímero que comprende un terpeno y un monómero que se polimeriza con terpeno por polimerización de radicales libres, donde el terpeno puede comprender α -pineno, β -pineno o limoneno.

25 La Patente de Estados Unidos Nº 5.776.361 desvela una composición secuestrante de oxígeno que comprende al menos un politerpeno, entre otros, poli(α -pineno), poli(dipenteno), poli(β -pineno), poli(d-limoneno) o poli(d,1-limoneno); y al menos un catalizador para su uso como un revestimiento sobre lámina o papel de aluminio, o formado en frascos u otros recipientes rígidos.

30 La Patente de Estados Unidos Nº 5.154.927 desvela una goma de mascar con un principio activo de liberación controlada donde la base de la goma de mascar comprende perlas poliméricas que comprenden un copolímero de pares monoméricos seleccionados entre el grupo que consiste en estireno y divinilbenceno, limoneno y divinilbenceno, carvona y divinilbenceno, eugenol y divinilbenceno, y ocimeno y divinilbenceno.

Se ha descrito el efecto del alocimeno en la cicatrización de la piel y heridas de la piel y músculo (Pravdich-Neminskaya y col., Bulletin of Experimental Biology and Medicine Volumen 85, Número 1, 57-60, enero de 1978).

35 La Patente de Estados Unidos Nº 3.979.371 desvela un polímero de epóxido de limoneno y la preparación del mismo, útil como un adherente en una composición adhesiva para cauchos o elastómeros.

La Patente de Estados Unidos Nº 2.264.774 desvela un proceso para polimerizar un terpeno, tal como β -pineno.

40 La Patente de Estados Unidos Nº 4.165.301 desvela una composición de perfumería líquida monofásica compuesta que comprende, entre otros, productos de dimerización de diversos terpenos, tal como de α -pineno, β -pineno, camfeno, d-limoneno o de turpentina.

45 La Patente de Estados Unidos Nº 6.265.478 desvela un material resinoso polimérico que comprende unidades obtenidas a partir de limoneno, y uso del mismo en una llanta neumática.

Se han desvelado polímeros líquidos-cristalinos con una estructura de limoneno-co-metil metacrilato (Mishra y col., J Appl Polym Sci 102: 4595-4600, 2006).

50 Se ha desvelado la síntesis de polímeros de β -pineno y α -felandreno a través de polimerización catiónica (Green Chem. 2006, vol. 8, págs. 878-882).

55 La Publicación de Solicitud de Patente de Estados Unidos Nº 2009/0209720 desvela un polímero de pineno que tiene un peso molecular medio en peso de 90.000 a 1.000.000, obtenido polimerizando β -pineno en presencia de un compuesto de vinilo bifuncional.

La Patente de Estados Unidos Nº 4.694.047 describe poli(alocimeno) halogenado y uso del mismo en revestimientos y muestra material de liberación para pesticidas.

60 La técnica anterior no contiene ninguna enseñanza o sugerencia de los usos terapéuticos para monoterpenos oligoméricos o poliméricos ya sean los obtenidos a partir de plantas u obtenidos por síntesis química, como principios activos en una composición farmacéutica o en una aplicación terapéutico para tratar afecciones metabólicas neurológicas.

RESUMEN DE LA INVENCION

El alcance de la presente invención se define por las reivindicaciones adjuntas.

5 La presente invención se basa en parte en el descubrimiento inesperado de que las formas poliméricas de los compuestos de monoterpeno cíclicos y acíclicos alocimeno, limoneno, α -pineno (también representado en el presente documento como alfa-pineno), β -pineno (también representado en el presente documento como beta-pineno), acetato de geranilo, 3-careno y 2-careno, muestran actividades biológicas beneficiosas que pueden aprovecharse para una diversidad de aplicaciones terapéuticas. Más específicamente, se descubrió que las formas
10 poliméricas producidas sintéticamente de cada uno de estos monoterpenos tenían una potente actividad en la inducción de la regeneración o diferenciación de una diversidad de tipos celulares, incluyendo células neuronales, endoteliales y epidérmicas, incluyendo las de linajes ectodérmicos, mesodérmicos y endodérmicos.

Por lo tanto, se desvela por primera vez que las formas poliméricas de estos monoterpenos específicos pueden emplearse como un principio activo en composiciones farmacéuticas para tratar trastornos neurodegenerativos, tales como enfermedad de Alzheimer, así como para inducir la regeneración tisular, por ejemplo para tratar trastornos cutáneos, incluyendo heridas crónicas. Además, los inventores de la presente invención han demostrado que dichos polímeros que tienen grados de polimerización en el intervalo de aproximadamente 6 a aproximadamente 200, muestran una actividad superior sobre los monoterpenos correspondientes en forma monomérica, los últimos de los
20 cuales no pudieron mostrar las actividades atribuidas a los compuestos objeto desvelados en el presente documento.

Las enseñanzas de la presente invención se han ilustrado con monoterpenos poliméricos sintéticos sintetizados a partir de monómeros de limoneno, pineno, alocimeno y acetato de geranilo. Además, las enseñanzas de la presente invención son particularmente sorprendentes e inesperadas sobre la técnica anterior, enseñando esta última algunos usos terapéuticos de los monómeros de monoterpeno, pero no de polímeros.

Sin desear quedar ligando a teoría o mecanismo de acción alguno, la actividad de los monoterpenos poliméricos en la inducción de la diferenciación de células neuronales, como se desvela en el presente documento, hace útil la presente invención para volver a formar conexiones inter-neuronales y superar una comunicación inter-neuronal defectuosa en el cerebro y el tejido neural afectados por patologías asociadas a una formación sináptica inadecuada. Esta patología es la base de muchas patologías del sistema nervioso, incluyendo, por ejemplo, la enfermedad de Alzheimer e ictus, que pueden beneficiarse de los efectos regeneradores y tróficos de los compuestos.

Además, la invención puede usarse para revertir los efectos adversos de diversos fármacos que actúan en el sistema nervioso, tales como anestésicos. Los polímeros proporcionados son útiles adicionalmente para promover la cicatrización de heridas y el rejuvenecimiento de un gran número de células y tejidos.

40 Como se usa en el presente documento "monoterpenos poliméricos" incluyen formas poliméricas de monoterpenos que tienen un grado de polimerización de al menos 6. Los monoterpenos poliméricos incluyen los formados a partir de alocimeno, limoneno, α -pineno, β -pineno, acetato de geranilo, 3-careno y 2-careno, e incluyen adicionalmente homopolímeros de los mismos, así como heteropolímeros de los mismos.

45 Se entenderá explícitamente que el uso de formas poliméricas de mirceno no se incluye dentro del alcance de la presente invención.

De acuerdo con un primer aspecto, la presente invención proporciona una composición que comprende al menos una forma polimérica de un monoterpeno, para su uso en el tratamiento de la función neurológica alterada, donde el monoterpeno se selecciona entre el grupo que consiste en alocimeno, limoneno, α -pineno, β -pineno, acetato de geranilo, 3-careno y 2-careno; y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Cada posibilidad es una realización separada de la invención.

Además, se describe en el presente documento una composición que comprende al menos una forma polimérica de un monoterpeno, para su uso en el tratamiento de un trastorno cutáneo o del cuero cabelludo donde el monoterpeno se selecciona entre el grupo que consiste en alocimeno, limoneno, α -pineno, β -pineno, acetato de geranilo, 3-careno y 2-careno; y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

De acuerdo con otro aspecto más, la invención proporciona una composición que comprende al menos una forma polimérica de un monoterpeno para su uso en la inducción de un proceso regenerativo, donde el monoterpeno se selecciona entre el grupo que consiste en alocimeno, limoneno, α -pineno, β -pineno, acetato de geranilo, 3-careno y 2-careno; y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Cada posibilidad es una realización separada de la invención.

En realizaciones particulares, la composición comprende un monoterpeno polimérico seleccionado el grupo que

consiste en alocimeno polimérico, limoneno polimérico, α -pineno polimérico, β -pineno polimérico, acetato de geranilo polimérico, 3-careno polimérico, 2-careno polimérico y combinaciones de los mismos. Cada posibilidad es una realización separada de la invención.

5 En realizaciones particulares, el monoterpeno polimérico se selecciona entre alocimeno polimérico y limoneno polimérico.

En realizaciones particulares, la composición está desprovista sustancialmente de la forma monomérica correspondiente del monoterpeno.

10 En realizaciones particulares, la composición comprende dicho monoterpeno polimérico como el único principio activo.

15 En realizaciones particulares, la composición comprende alocimeno polimérico como el único principio activo. En realizaciones particulares, la composición comprende limoneno polimérico como el único principio activo.

20 En realizaciones particulares, la composición consiste en un monoterpeno polimérico seleccionado el grupo que consiste en alocimeno polimérico, limoneno polimérico, α -pineno polimérico, β -pineno polimérico, acetato de geranilo polimérico, 3-careno polimérico, 2-careno polimérico y combinaciones de los mismos; y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Cada posibilidad es una realización separada de la invención. En realizaciones particulares, el monoterpeno polimérico se selecciona entre alocimeno polimérico y limoneno polimérico.

25 En realizaciones particulares, la composición consiste en alocimeno polimérico y un vehículo farmacéuticamente aceptable. En realizaciones particulares, la composición consiste en limoneno polimérico y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

30 En realizaciones particulares, la composición está desprovista sustancialmente de un gingerol. En realizaciones particulares, la composición está desprovista sustancialmente de un monoterpeno en forma monomérica, donde dicho monoterpeno se selecciona entre el grupo que consiste en alocimeno, limoneno, α -pineno, β -pineno, acetato de geranilo, α -felandreno, γ -terpineno, 3-careno, 2-careno y combinaciones de los mismos. Cada posibilidad es una realización separada de la invención.

35 En realizaciones particulares, un uso que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición que consiste en al menos uno de: alocimeno polimérico, limoneno polimérico, α -pineno polimérico, β -pineno polimérico, acetato de geranilo polimérico, 3-careno polimérico o 2-careno polimérico; y un vehículo farmacéuticamente aceptable; donde la composición está desprovista sustancialmente de la forma monomérica correspondiente de dicho monoterpeno.

40 En realizaciones particulares, la composición comprende menos del 1 % (p/p) de la forma monomérica correspondiente de dicho monoterpeno.

En realizaciones particulares, la composición comprende menos del 0,5 % (p/p) de la forma monomérica correspondiente de dicho monoterpeno.

45 En realizaciones particulares, la composición comprende menos del 0,2 % (p/p) de la forma monomérica correspondiente de dicho monoterpeno.

50 En una realización particular, el monoterpeno polimérico está presente en la composición en una cantidad de aproximadamente el 0,01 a aproximadamente el 12 % (p/p), en base al peso total de la composición.

55 En una realización particular, el monoterpeno polimérico tiene un grado de polimerización en el intervalo de al menos aproximadamente 6 a aproximadamente 200. En una realización particular, el grado de polimerización está en el intervalo de aproximadamente 6 a aproximadamente 50. En una realización particular, el grado de polimerización es al menos aproximadamente 25. En una realización particular, el grado de polimerización está en el intervalo de aproximadamente 30 a aproximadamente 100, o en el intervalo de aproximadamente 50 a aproximadamente 150.

60 En una realización particular, el monoterpeno polimérico tiene un peso molecular medio en número de al menos aproximadamente 1000. En una realización particular, el monoterpeno polimérico tiene un peso molecular medio en número de hasta aproximadamente 25.000.

En una realización particular, el peso molecular medio en número es al menos aproximadamente 3000. En una realización particular, el peso molecular medio en número es al menos aproximadamente 5000. En una realización particular, el monoterpeno polimérico tiene un peso molecular medio en número en el intervalo de al menos aproximadamente 1000 a aproximadamente 25.000. En realizaciones particulares, el peso molecular medio en

número está en un intervalo seleccionado entre el grupo que consiste en: al menos aproximadamente de 1000 a aproximadamente 5000; al menos aproximadamente de 1000 a aproximadamente 15.000; de aproximadamente 5000 a aproximadamente 15.000; de aproximadamente 5000 a aproximadamente 20.000; de aproximadamente 15.000 a aproximadamente 25.000; y combinaciones de los mismos. Cada posibilidad es una realización separada de la invención.

En una realización particular, el monoterpeno polimérico tiene una distribución molecular menor de 5.

En una realización particular, el monoterpeno polimérico es un producto de una síntesis química. En una realización particular, la forma polimérica de dicho monoterpeno se aísla de una fracción botánica. En una realización particular, el monoterpeno polimérico está presente en una fracción botánica aislada.

En otra realización, el monoterpeno polimérico es un producto de una síntesis química y tiene un peso molecular medio en número en el intervalo de aproximadamente 1000 a aproximadamente 25.000. En realizaciones particulares, el peso molecular medio en número está en un intervalo seleccionado entre el grupo que consiste en: al menos aproximadamente de 1000 a aproximadamente 5000; al menos aproximadamente de 1000 a aproximadamente 15.000; aproximadamente de 5000 a aproximadamente 15.000; aproximadamente de 5000 a aproximadamente 20.000; aproximadamente de 15.000 a aproximadamente 25.000; y combinaciones de los mismos. Cada posibilidad es una realización separada de la invención.

En una realización particular, la síntesis química comprende el uso de un monoterpeno monomérico como un sustrato, donde el monoterpeno monomérico se selecciona entre el grupo que consiste en alocimeno, limoneno, α -pineno, β -pineno, acetato de geranilo, 3-careno y 2-careno. En una realización particular, el sustrato de monoterpeno monomérico se obtiene a partir de una especie vegetal.

En una realización particular, el monoterpeno polimérico es un producto de una síntesis química y está desprovisto sustancialmente de formas monoméricas del mismo monoterpeno. En una realización particular, el monoterpeno polimérico es un producto de una síntesis química y la composición está desprovista sustancialmente de formas monomérica y oligoméricas del mismo sustrato de monoterpeno.

En una realización particular, la síntesis química se selecciona entre el grupo que consiste en una reacción de polimerización aniónica, una reacción de polimerización catiónica, una polimerización radicalaria, una polimerización catalizada con metal, una polimerización catalizada con metal de transición y una reacción de fotopolimerización.

En una realización particular, el vehículo farmacéuticamente aceptable comprende al menos un aceite. En una realización particular, el al menos un aceite se selecciona entre el grupo que consiste en un aceite mineral, un aceite vegetal, y combinaciones de los mismos. En una realización particular, el aceite vegetal se selecciona entre el grupo que consiste en aceite de almendras, aceite de colza, aceite de coco, aceite de maíz, aceite de semilla de algodón, aceite de semilla de uva, aceite de oliva, aceite de cacahuete, aceite de azafrán, aceite de sésamo, aceite de soja, y combinaciones de los mismos. En una realización particular, el aceite mineral es aceite mineral ligero.

En realizaciones particulares, la composición farmacéutica está en una forma seleccionada entre el grupo que consiste en una cápsula, un comprimido, un supositorio, una suspensión y una pomada. En realizaciones particulares, la composición farmacéutica comprende al menos uno de un liposoma, una película, una emulsión, una microemulsión, una microcápsula y un cemento.

En diversas realizaciones, la etapa de administración se realiza por una ruta seleccionada entre el grupo que consiste en tópica, intramuscular, intravenosa, intraperitoneal, subcutánea, intradérmica, vaginal, rectal, intracraneal, intranasal, intraocular y auricular. Cada posibilidad es una realización separada de la invención.

En diversas realizaciones, la etapa de administración se realiza por la ruta oral. En diversas realizaciones, la etapa de administración se realiza por una ruta que es distinta de una ruta oral o enteral.

En realizaciones particulares, la etapa de administración comprende poner en contacto células con la composición, donde las células son de un tipo particular, de un linaje particular, o están en una fase particular de diferenciación.

En realizaciones particulares, las células se seleccionan entre el grupo que consiste en células neurales, células neuronales, células endoteliales, células epiteliales, osteoblastos y condrocitos. En realizaciones particulares, las células son de un linaje seleccionado entre el grupo que consiste en linajes ectodérmicos, mesodérmicos y entodérmicos. En diversas realizaciones, la etapa de poner en contacto las células se realiza *in vivo*, *ex vivo* o *in vitro*.

En una realización particular, las células se ponen en contacto *ex vivo* o *in vitro* con la composición y, por lo tanto, se implantan o se trasplantan en el sujeto. En una realización particular, las células para implante o trasplante son de un

órgano o tejido. En una realización particular, las células son aquellas que secretan factores solubles.

En realizaciones particulares, la etapa de administración comprende extraer células o fluidos corporales del sujeto o animal, poner en contacto las células o fluidos corporales con la composición, y devolver dichas células o fluidos corporales al sujeto o animal.

En una realización particular, la función neurológica alterada comprende un descenso de una función seleccionada entre el grupo que consiste en una función cognitiva, función sensorial, función motora y combinaciones de las mismas. En realizaciones particulares, la función neurológica alterada se asocia a una afección o enfermedad seleccionada entre el grupo que consiste en demencia vascular, demencia senil, enfermedad de Alzheimer, esclerosis lateral amiotrófica (ALS), enfermedad de Huntington, esclerosis múltiple y enfermedad de Parkinson. Cada posibilidad es una realización separada de la invención.

En una realización particular, la función neurológica alterada se debe a una exposición a un fármaco, tal como un fármaco anestésico.

Los trastornos cutáneos y del cuero cabelludo incluyen trastornos de piel, cuero cabelludo y apéndices pilosos, incluyendo por ejemplo, uñas y folículos pilosos. El trastorno cutáneo o del cuero cabelludo puede seleccionarse entre el grupo que consiste en alopecia, eccema, psoriasis, acné, queratosis seborreica y seborrea. El trastorno cutáneo puede ser una herida de la piel, incluyendo, por ejemplo, una úlcera venosa de la pierna, una úlcera por presión, una úlcera del pie en diabéticos, una quemadura, una herida por amputación, una úlcera de decúbito (úlceras de cama), un injerto de donante de espesor parcial, un sitio de donante de injerto de piel, un sitio de implante de dispositivo médico, una herida por mordedura, una herida por congelación, una herida por punción, una herida de metralla, una dermoabrasión, una herida por infección y una herida quirúrgica. En una realización particular, la fuente de la herida se selecciona entre el grupo que consiste en una infección; exposición a radiación ionizante; exposición a láser, y exposición a un agente químico.

Los usos desvelados en el presente documento, la etapa de administración o poner en contacto las células puede comprender el uso de un artículo de fabricación, donde la composición se dispone en o dentro del artículo de fabricación. En una realización particular, la composición se dispone en el artículo de fabricación en forma de un revestimiento. En una realización particular, el artículo de fabricación comprende un recipiente, donde la composición se dispone dentro del recipiente. En una realización particular, el artículo de fabricación se selecciona entre el grupo que consiste en un artículo de tela, un pañal, un vendaje para heridas, un dispositivo médico, una aguja o una pluralidad de agujas, una microaguja o una pluralidad de microagujas, un dispositivo de inyección y un dispensador por pulverización. En una realización particular, el artículo de fabricación comprende una pluralidad de microagujas.

En realizaciones particulares, el dispositivo médico se selecciona entre el grupo que consiste en una prótesis, un órgano artificial o componente del mismo, una válvula, un catéter, un tubo, una endoprótesis vascular, una membrana artificial, un marcapasos, un sensor, un endoscopio, un dispositivo de imagen, una bomba, un cable y un implante. En una realización particular, el implante se selecciona entre el grupo que consiste en un implante cardíaco, un implante coclear, un implante corneal, un implante craneal, un implante dental, un implante maxilofacial, un implante de órgano, un implante ortopédico, un implante vascular, un implante intraarticular y un implante de mama.

En una realización particular, la composición se administra/se pone en contacto antes de o tras la implantación de un dispositivo médico en el sujeto. En una realización particular, el dispositivo médico es un implante de órgano. En una realización particular, el implante de órgano comprende células autólogas del sujeto. En una realización particular, el método se realiza antes de o tras el trasplante de las células, el tejido, o un órgano en el sujeto.

En una realización particular, la etapa de administrar o poner en contacto comprende un medio seleccionado entre el grupo que consiste en electroporación, sonicación, radiofrecuencia, rociado a presión, y combinaciones de los mismos.

En una realización particular, la etapa de puesta en contacto comprende establecer contacto entre el líquido intersticial y la composición. En una realización particular, la etapa de establecer contacto entre el líquido intersticial y la composición comprende perforar y/o desgarrar la dermis con una aguja, una microaguja, o un aparato que comprende una pluralidad de agujas o microagujas.

En una realización particular, el sujeto es un ser humano. En una realización particular, el sujeto se selecciona entre un mamífero no humano, un pez o u ave.

De acuerdo con otro aspecto, la presente invención proporciona el uso de una forma polimérica de un monoterpeno, donde el monoterpeno se selecciona entre el grupo que consiste en alocimeno, limoneno, α -pineno, β -pineno,

acetato de geranilo, 3-careno y 2-careno, para la preparación de un medicamento para tratar la función neurológica alterada.

Se describe adicionalmente el uso de una forma polimérica de un monoterpeno, donde el monoterpeno se selecciona entre el grupo que consiste en alocimeno, limoneno, α -pineno, β -pineno, acetato de geranilo, 3-careno y 2-careno, para la preparación de un medicamento para tratar un trastorno cutáneo o del cuero cabelludo.

También se reivindican o se describen en el presente documento formas más cortas y más largas de monoterpenos poliméricos de los monoterpenos descritos, incluyendo, formas sintéticas y semi-sintéticas, incluyendo copolímeros, y derivados sustituidos con diversas funcionalidades, y conjugados con moléculas adicionales, como se conocen en la técnica, con la condición de que estas variante y modificaciones conserven la capacidad terapéutica de los compuestos de material polimérico en el contexto de los métodos de la presente invención.

Otros objetos, características y ventajas de la presente invención se harán evidentes a partir de la siguiente descripción y los dibujos.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La **figura 1** muestra formas monoméricas de monoterpenos cíclicos y acíclicos que pueden usarse para producir oligómeros y polímeros.

La **figura 2** muestra la diferenciación neuronal en las células ARPE-19 de RPE inducida por limoneno polimérico. La figura 2A muestra células que se trataron con limoneno polimérico. La figura 2B muestra células que se trataron con vehículo (aceite de semilla de algodón).

La **figura 3** muestra la diferenciación neuronal en las células ARPE-19 de RPE inducida por alocimeno polimérico. La figura 3A muestra células que se trataron con alocimeno polimérico. La figura 3B muestra células que se trataron con vehículo (aceite de semilla de algodón).

La **figura 4** muestra una comparación de los efectos de alocimeno polimérico y alocimeno monomérico sobre las células ARPE-19 de RPE. Las células se trataron con alocimeno polimérico (figura 4A), alocimeno monomérico (figura 4B), o vehículo de aceite de semilla de algodón (figura 4C).

La **figura 5** es una cromatografía de exclusión por tamaño del alocimeno polimérico sintetizado químicamente, que muestra picos en el tiempo de retención (TR) de 7,841 y 7,917 min.

La **figura 6** es una cromatografía de exclusión por tamaño del limoneno polimérico sintetizado químicamente, que muestra picos en TR de 8,493, 8,703 y 9,271 min.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

El inventor de la presente invención ha descubierto sorprendentemente que las formas poliméricas químicamente sintetizadas de monoterpenos específicos de diversos intervalos de peso molecular, tienen actividad en la mejora de la función neurológica alterada, promoviendo la diferenciación de células neurales; la cicatrización de heridas y la mejora de diversas afecciones de la piel.

En particular, se desvela en el presente documento por primera vez que, debido a sus diversas actividades en la estimulación y la inducción de la regeneración celular, pueden emplearse monoterpenos poliméricos, conocidos previamente únicamente para su uso en aplicaciones industriales, para su uso terapéutico en seres humanos. Sorprendentemente, los compuestos poliméricos de la invención son ventajosos sobre los monoterpenos monoméricos correspondientes, ya que estos últimos no muestran las actividades de estimulación celular desveladas en el presente documento.

Ventajosamente, las composiciones pueden usarse en el tratamiento de la función neurológica alterada y afecciones cutáneas y del cuero cabelludo. Tras el contacto con las células de sujetos tanto humanos como no humanos, la composición induce la diferenciación celular en una amplia gama de tejidos, compartimentos celulares y linajes celulares, incluyendo la piel, endotelio, membranas mucosas, huesos, tendones y cartílagos. Además, la actividad de la diferenciación celular de la composición farmacéutica puede aprovecharse para promover la incorporación *in vivo* de dispositivos médicos, implantes y trasplantes de órganos.

Por lo tanto, se desvela en el presente documento por primera vez que las formas poliméricas de alocimeno, limoneno, α -pineno, β -pineno, acetato de geranilo, α -felandreno, γ -terpineno, 3-careno y 2-careno, de diversos intervalos de peso molecular, tienen actividad en la inducción de la diferenciación en células del epitelio pigmentado retinal. También se ha descubierto que las líneas celulares de melanoma y neuroblastoma se indujeron para diferenciar y, por lo tanto, reducir su potencial maligno. Por ejemplo, las células de melanoma maligno tratadas con alocimeno polimérico asumieron una morfología menos maligna, y el cambio observado en la diferenciación se acompañó por una producción de melanina típica en el citoplasma.

Definiciones

Como se usa en el presente documento, "compuestos de terpeno" se refiere a hidrocarburos que contienen isopreno, que tienen unidades de isopreno ($\text{CH}_2=\text{C}(\text{CH}_3)-\text{CH}=\text{CH}_2$) en una orientación de principio a fin. Los hidrocarburos de terpeno en general, tienen la fórmula molecular $(\text{C}_5\text{H}_8)_n$, e incluyen hemiterpenos, (C5), monoterpenos (C10), sesquiterpenos (C15), diterpenos (C20), triterpenos (C30) y tetraterpenos (C40) que tienen respectivamente 1, 2, 3, 4, 6 y 8 unidades de isopreno. Los terpenos pueden clasificarse adicionalmente como acíclicos o cíclicos.

Los ejemplos de monoterpenos incluyen acetato de geranilo, alocimeno, limoneno y pineno.

Como se usa en el presente documento, "monoterpenos poliméricos" incluyen formas poliméricas de monoterpenos que tienen un grado de polimerización de al menos 6. Los monoterpenos poliméricos para su uso en la invención incluyen los formados a partir de alocimeno, limoneno, α -pineno polimérico, β -pineno, acetato de geranilo, 3-careno y 2-careno, cada uno por sí mismo o en diversas combinaciones. Por consiguiente, los monoterpenos poliméricos incluyen tanto homopolímeros como heteropolímeros (también conocidos como copolímeros). También se incluyen isómeros geométricos, isómeros ópticos y diaestereoisómeros de estos compuestos poliméricos.

El polímero de monoterpeno puede obtenerse a partir de una fuente vegetal o es un producto de reacción sintética química. El polímero de monoterpeno tiene preferiblemente un peso molecular definido o un intervalo de peso molecular.

Como se usa en el presente documento, "homopolímero" se refiere a un polímero que se produce a partir de un único tipo de monómero. Por ejemplo, el limoneno polimérico es un homopolímero cuando se produce únicamente a partir de monómeros de limoneno, por ejemplo R+ limoneno. Un homopolímero también puede ser una mezcla de polímeros producidos a partir del mismo monómero, pero que tienen un grado variable de polimerización, es decir, de longitud de cadena. Por consiguiente, el limoneno polimérico, por ejemplo, puede incluir una gama de compuestos de diferentes longitudes de cadena y, por consiguiente, diferentes pesos moleculares. Además, un homopolímero puede contener monómeros que tienen diferentes configuraciones isoméricas, por ejemplo, isómeros β y α .

Los homopolímeros para su uso en la invención incluyen alocimeno polimérico, limoneno polimérico, α -pineno polimérico, β -pineno polimérico, acetato de geranilo polimérico, 3-careno polimérico y 2-careno polimérico.

Como se usa en el presente documento, "heteropolímero" y "copolímero" se refieren a un polímero producido a partir de más de un tipo de monómero. Por lo tanto, por ejemplo, un copolímero de limoneno se produce a partir de monómeros de limoneno, además de un tipo heterólogo de monómero que no es limoneno, por ejemplo, pineno. Los copolímeros incluyen copolímeros alternados, copolímeros periódicos, copolímeros aleatorios, copolímeros de bloque, y copolímeros estadísticos, como se conoce en la técnica.

Como se usa en el presente documento, el término "monoterpeno oligomérico" se refiere a formas oligomerizadas de monoterpenos que tienen un grado de oligomerización en el intervalo de 2 a 5. Los monoterpenos oligoméricos incluyen los formados a partir de alocimeno, limoneno, α -pineno, β -pineno, acetato de geranilo, α -felandreno, γ -terpineno, 3-careno y 2-careno, cada uno por sí mismo o en diversas combinaciones. Por consiguiente, los monoterpenos oligoméricos incluyen tanto homo-oligómeros como hetero-oligómeros.

Como se usa en el presente documento, "homo-oligómero" se refiere a un oligómero que se produce a partir de unidades de un único tipo de monómero, por ejemplo, únicamente β -pineno.

Como se usa en el presente documento, "heter-oligómero" se refiere a un oligómero que se produce a partir de diferentes tipos de monómero, por ejemplo, a partir de γ -terpineno y β -pineno.

Como se usa en el presente documento, "grado de polimerización" se refiere al número de monómeros o unidades monoméricas que se asocian covalentemente entre sí para formar un polímero o un oligómero, por ejemplo, el número de monómeros de limoneno en un limoneno polimérico.

Como se usa en el presente documento, "peso molecular medio en peso" se refiere al peso molecular medio de un polímero que tiene moléculas de diferentes longitudes de cadena, como se expresa por la ecuación:

$$\bar{M}_w = \frac{\sum_i N_i M_i^2}{\sum_i N_i M_i}$$

donde N_i es el número de moléculas de peso molecular M_i . El peso molecular medio en peso puede determinarse,

por ejemplo, por dispersión de luz, dispersión de neutrones de ángulo reducido, dispersión de rayos X y velocidad de sedimentación.

Como se usa en el presente documento, "peso molecular medio en número" se refiere al peso molecular medio de un polímero que tiene moléculas de diferentes longitudes de cadena, como se expresa por la ecuación:

$$\bar{M}_n = \frac{\sum_i N_i M_i}{\sum_i N_i}$$

donde N_i es el número de moléculas de peso molecular M_i . El peso molecular medio en número puede determinarse, por ejemplo, por cromatografía de permeación en gel (también conocida como cromatografía de exclusión de tamaño) o viscometría.

Las expresiones "índice de polidispersidad" y "distribución molecular" se usan en el presente documento de forma intercambiable para referirse a la relación del peso molecular medio en peso con respecto al peso molecular medio en número.

Como se usa en el presente documento, "una forma oligomérica" en referencia a un monoterpeno se refiere a un monoterpeno oligomérico en el que las unidades monoméricas son cualquiera del mismo monoterpeno o de diferentes monoterpenos, y se unen en cualquier disposición posible, y se conectan entre sí a través de cualquier enlace o grupo funcional posible.

Como se usa en el presente documento, "desprovisto sustancialmente" significa que una preparación o composición de acuerdo con la invención contiene menos del 3 % de la sustancia indicada, preferiblemente menos del 1 % y mucho más preferiblemente menos del 0,5 %.

Como se usa en el presente documento, "desprovisto sustancialmente de la forma monomérica correspondiente" significa que una preparación o composición que comprende un monoterpeno oligomérico o polimérico de acuerdo con la invención, contiene menos del 3 % de la forma monomérica del mismo monoterpeno que constituye la forma oligomérica o polimérica objeto, preferiblemente menos del 1 % y mucho más preferiblemente menos del 0,5 %.

Como se usa en el presente documento, "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a la cantidad de un ingrediente farmacéutico que sustancialmente induce, promueve o da como resultado un efecto terapéutico deseado.

Como se usa en el presente documento, "vehículo farmacéuticamente aceptable" se refiere a un diluyente o vehículo que se usa para mejorar la administración y/o las propiedades farmacocinéticas de un ingrediente farmacéutico con el que se formula, pero no tiene ningún efecto terapéutico por sí mismo, ni induce ni causa ningún efecto no deseado o adverso o reacción secundaria en el sujeto.

Como se usa en el presente documento, "vehículo hidrófobo farmacéuticamente aceptable" se refiere a un diluyente o vehículo no polar hidrófobo en el que el monoterpeno oligomérico o polimérico de la invención se disuelve o se suspende. En general, el vehículo hidrófobo farmacéuticamente aceptable no interfiere con la actividad terapéutica del monoterpeno que se ha mencionado anteriormente, ni es irritante o perjudicial para el sujeto.

Como se usa en el presente documento, "diferenciación celular" se refiere al proceso en el que una célula menos especializada se convierte en una célula más especializada. La diferenciación celular puede establecerse sobre la base de cambios en cualquiera de varias características celulares, incluyendo, pero sin limitación, tamaño, forma, aspecto del organelo, potencial de membrana, actividad metabólica, y sensibilidad a señales. Puede darse un "grado" particular a un tipo de célula para describir el alcance de la diferenciación.

Como se usa en el presente documento, "función neurológica alterada" se refiere a una reducción o disminución en al menos una de la función sensorial, cognitiva o motora, en comparación con un nivel previo de función o actividad, y/o en comparación con individuos no alterados emparejados de acuerdo con los criterios aceptados.

Monoterpenos

Pineno ($C_{10}H_{16}$; masa mol. 136,23) es un monoterpeno bicíclico, del cual, los dos isómeros estructurales α -pineno (2,6,6-trimetilbicyclo[3.2.1]hept-2-eno) y β -pineno (6,6-dimetil-2-metilenobicyclo[3.1.1]heptano) existen en la naturaleza. Ambas formas son constituyentes importantes de resinas de pino y muchas otras coníferas, y también se encuentran en especies vegetales no coníferas.

Biosintéticamente, tanto α -pineno como β -pineno se producen a partir de pirofosfato de geranilo, a través de ciclación de pirofosfato de linaloilo seguido de una pérdida de un protón del equivalente carbocatión.

Ambas formas de pineno están presentes en muchos aceites esenciales, pero se obtienen en su mayoría a partir de turpentina, obtenida por la destilación seca de madera u otro material botánico seco). El α -pineno obtenido en aceites de América del Norte es en gran medida dextrorrotatorio, mientras que los aceites Europeos son levorrotatorios. La mayor parte del β -pineno, independientemente de su origen, es levorrotatorio. Como ejemplos, el α -pineno y el β -pineno se encuentran en aceite de madera de cedro, aceite de naranja, aceite de piel de mandarina y en muchas fragancias.

El limoneno ($C_{10}H_{16}$; masa mol. 136,24) es un monoterpeno cíclico caracterizado por su fuerte olor cítrico. Es una molécula quiral, y las fuentes biológicas (principalmente los cítricos) producen D-limoneno ((+)-limoneno), que es el enantiómero (R) (1-metil-4-(1-metiletenil)-ciclohexeno).

El limoneno racemiza en dipenteno a 300 °C. Al calentarse con ácido mineral, el limoneno isomeriza en el dieno α -terpineno conjugado.

Biosintéticamente, el limoneno se forma a partir de pirofosfato de geranilo, a través de la ciclación de un carbocatión de nerilo o su equivalente. La etapa final implica la pérdida de un protón del catión para formar el alqueno.

El alocimeno ($C_{10}H_{16}$; masa mol. 136,24) es el monoterpeno acíclico 2,6-dimetil-2,4,6-octatrieno, como se describe, por ejemplo, en Milks y col., J. Org. Chem. 1965, 30(3) 888-891. El compuesto incluye las formas estereoisoméricas. 2,4,6-octatrieno, 2,6-dimetil-, (E,E)-; (4Z,6Z)-2,6-dimetil-2,4,6-octatrieno; (4Z,6E)-2,6-dimetil-2,4,6-octatrieno; 2,4,6-octatrieno, 2,6-dimetil-, (E,Z)- y 2,6-dimetil-octa-2,4,6-trieno, cis.

El poli(alocimeno) epoxidado y un uso del mismo como un reticulador (agente de curación) para composiciones de revestimiento de poliéster, poliéter y poliuretano se describe en la Patente de Estados Unidos N° 4.690.982. El poli(alocimeno) halogenado y un uso del mismo en revestimiento como resina barrera se describe en la Patente de Estados Unidos N° 4.694.047.

El acetato de geranilo ($C_{12}H_{20}O_2$; masa mol. 196,29; también denominado como etanoato de geranilo) es el monoterpeno acíclico, acetato de 3,7-dimetil-2,6-octadieno.

El acetato de geranilo puede aislarse a partir de diversos aceites esenciales, incluyendo, citronela de Ceilán, palmarosa, hierba de limón, grano menudo, aceite de flores de naranjo, geranio, cilandro, zanahoria y sasafrás. Puede obtenerse por destilación fraccional de aceites esenciales, o pueden prepararse semi-sintéticamente por la condensación sencilla del terpeno natural común geraniol con ácido acético.

Los monoterpenos cíclicos incluyen los isómeros α -felandreno (2-metil-5-(1-metiletil)-1,3-ciclohexadieno) y β -felandreno (3-metileno-6-(1-metiletil)ciclohexeno) (cada uno $C_{10}H_{16}$ y 136,24), que pueden aislarse de aceites de eucalipto y aceites balsámicos, respectivamente.

Los monoterpenos cíclicos isoméricos adicionales son α -terpineno (4-metil-1-(1-metiletil)-1,3-ciclohexadieno); β -terpineno (4-metileno-1-(1-metiletil)ciclohexeno) y γ -terpineno (4-metil-1-(1-metiletil)-1,4-ciclohexadieno), cada uno $C_{10}H_{16}$ y masa mol. 136,24. El α -terpineno puede aislarse de varias fuentes vegetales, incluyendo cardamomo y aceites de mejorana. El β -terpineno no tiene ninguna fuente natural conocida, pero puede prepararse sintéticamente a partir de sabinena. El γ -terpineno puede aislarse de diversas fuentes vegetales.

Monoterpenos poliméricos y oligoméricos

Los monoterpenos oligoméricos descritos en el presente documento no forman parte del alcance de la invención.

Los monoterpenos poliméricos se refieren a un compuesto polimérico, o una mezcla de polímeros de diferente peso molecular, que se forman a partir de al menos 6 subunidades de monoterpeno monomérico. Los monoterpenos oligoméricos se refieren a compuestos oligoméricos, que se forman a partir de 2 a 5 subunidades de monoterpeno monomérico.

El monoterpeno oligomérico o polimérico puede ser un producto sintético, producido por un proceso químico usando como sustrato una forma monomérica de un monoterpeno específico, por ejemplo alocimeno, limoneno, α -pineno polimérico, β -pineno, acetato de geranilo, α -felandreno, γ -terpineno, 3-careno o 2-careno, como se describe en el presente documento. El material de sustrato monomérico puede aislarse de una planta o producto vegetal tal como un aceite, o puede convertirse química o enzimáticamente a partir de un terpeno precursor, como se conoce en la técnica.

Una fracción aislada de material de monoterpeno oligomérico o polimérico puede obtenerse como el producto purificado de una reacción de síntesis química, como se ilustra en los Ejemplos 1-10.

Las reacciones de síntesis química adecuadas incluyen, por ejemplo, una reacción de polimerización aniónica, una reacción de polimerización catiónica, una polimerización radicalaria, una polimerización catalizada con metal, una polimerización catalizada con metal de transición y una reacción de fotopolimerización.

- 5 En una realización particular, la síntesis química es una reacción de polimerización aniónica. La reacción de polimerización aniónica puede comprender el uso de butil litio como catalizador.

10 En una realización particular, la síntesis química es una reacción de polimerización catiónica. La reacción de polimerización catiónica puede comprender el uso de un ácido de Lewis como catalizador. Los ácidos de Lewis adecuados incluyen cloruro de aluminio (AlCl_3), cloruro de bismuto (SbCl_3), cloruro de estaño (IV) (SnCl_4), eterato de trifluoruro de boro ($\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$), cloruro de titanio (IV) (TiCl_4), o cualquier combinación de los mismos.

15 En una realización particular, la síntesis química es una polimerización radicalaria. La polimerización radicalaria puede comprender el uso de cualquier luz, calor y un iniciador radicalario como iniciador. En una realización particular, la polimerización radicalaria comprende una etapa de iniciación en la que se usa luz como iniciador. En una realización particular, se usa calor como el iniciador en la etapa de iniciación. En una realización particular, se usa un iniciador radicalario como inhibidor en la etapa de iniciación. En una realización particular, se usan tanto luz como un iniciador radicalario como iniciadores en la etapa de iniciación. En una realización particular, se usan tanto calor como un iniciador radicalario como iniciadores en la etapa de iniciación. En una realización particular, cada uno de luz, calor y un iniciador radicalario se usa como iniciador en la etapa de iniciación.

20 El iniciador radicalario puede ser un compuesto orgánico o inorgánico, por ejemplo peróxido de benzoílo, 2,2'-azobisisobutironitrilo (AIBN), peróxido de hidrógeno o peroxisulfato potásico. En una realización particular, el iniciador radicalario es peróxido de benzoílo. En una realización particular, el iniciador radicalario es peróxido de benzoílo combinado con calentamiento. En una realización particular, el iniciador radicalario es peróxido de benzoílo combinado con calentamiento y luz. En una realización particular, el iniciador radicalario es peróxido de benzoílo combinado con luz.

25 En una realización particular, la síntesis química es una reacción de polimerización y/o oligomerización catalizada con metal. La polimerización y/o oligomerización catalizada con metal puede comprender el uso de un catalizador de metal de transición. Puede comprender adicionalmente el uso de peróxido de hidrógeno como iniciador.

30 En algunas realizaciones preferidas, la síntesis química es una reacción de fotopolimerización que comprende el uso de una fuente de energía para proporcionar la etapa de iniciación. Las fuentes de energía adecuadas incluyen luz solar, una lámpara UV, una lámpara de luz visible. En otra realización, se usa una fuente de radiación gamma para iniciar la oligomerización y/o la polimerización. En otra realización, se usa una combinación de luz y radiación gamma como iniciador.

35 Los monoterpenos oligoméricos o poliméricos químicamente sintetizados, por ejemplo, pineno polimérico o alocimeno polimérico, pueden aislarse de un sustrato sin reaccionar y otros reactivos, analizarse y fraccionarse adicionalmente de acuerdo con el peso molecular usando métodos analíticos y de separación como se conocen en la técnica. Dichos métodos incluyen los que separan moléculas basándose en el tamaño, la carga o hidrofobicidad, incluyendo, por ejemplo, cromatografía de exclusión de tamaño (SEC), cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC), cromatografía líquida de gases (GLC), y combinaciones de los mismos. Los métodos analíticos para determinar la estructura química precisa del polímero obtenido incluyen resonancia magnética nuclear (por ejemplo ^1RMN y ^{13}RMN) y cromatografía de gases-espectrometría de masas (GCMS). Pueden usarse los mismos métodos y enfoques para purificar y caracterizar los monoterpenos poliméricos aislados de plantas.

40 En una realización preferida, una fracción de alocimeno polimérico, que es un producto de una síntesis química, está desprovista sustancialmente de monómeros. Tal fracción puede usarse directamente, o purificarse adicionalmente, caracterizarse y/o fraccionarse usando medios conocidos en la técnica. Las formas monoméricas de terpenos y otras moléculas volátiles pueden eliminarse por evaporación.

45 Los disolventes no polares adecuados para su uso en la separación purificación y análisis incluyen, por ejemplo, diclorometano, hexano, tetrahidrofurano, y combinaciones de los mismos. Para la preparación de una composición para uso terapéutico, los disolventes hidrófobos no polares adecuados incluyen aceites farmacéuticamente aceptables como se describe en el presente documento.

50 Las formas oligoméricas y poliméricas de los monoterpenos pueden obtenerse usando extracción de disolvente polar, tal como con etanol y metanol. Los monoterpenos monoméricos se disolverán en el disolvente polar, dejando las formas oligoméricas y poliméricas de forma aislada.

55 En una realización actualmente preferida, el grado de polimerización del monoterpeno polimérico es al menos aproximadamente 6, por ejemplo en el intervalo de aproximadamente 6 a aproximadamente 200. En una realización

particular, el grado de polimerización es al menos aproximadamente 25. En una realización particular, al material polimérico tiene un grado de polimerización en el intervalo de aproximadamente 6 a aproximadamente 50. Los intervalos ejemplares adecuados incluyen de aproximadamente 30 a aproximadamente 100, o de aproximadamente 50 a aproximadamente 150. En una realización particular, el monoterpeno polimérico tiene un peso molecular medio en número de al menos aproximadamente 1000. En una realización particular, el monoterpeno polimérico tiene un peso molecular medio en número de hasta aproximadamente 25.000.

El peso molecular medio en número del monoterpeno polimérico es preferiblemente al menos aproximadamente 3000, e incluso más preferiblemente, el peso molecular medio en número es al menos aproximadamente 5000. En una realización particular, el material polimérico tiene un peso molecular medio en número en el intervalo de al menos aproximadamente 1000 a aproximadamente 25.000. En realizaciones particulares, el peso molecular medio en número está en un intervalo seleccionado entre el grupo que consiste en: al menos aproximadamente de 1000 a aproximadamente 5000; al menos aproximadamente de 1000 a aproximadamente 15.000; de aproximadamente 5000 a aproximadamente 15.000; de aproximadamente 5000 a aproximadamente 20.000; de aproximadamente 15.000 a aproximadamente 25.000; y combinaciones de los mismos. En una realización particular, el monoterpeno polimérico tiene una distribución molecular de menos de 5.

El peso molecular del monoterpeno polimérico puede expresarse de varias maneras, por ejemplo, peso molecular medio en peso o peso molecular medio en número, como se conoce en la técnica. El peso molecular puede determinarse por cualquiera de varios medios, tales como dispersión de luz, dispersión de neutrones de ángulo reducido, dispersión de rayos X, velocidad de sedimentación, viscometría (ecuación de Mark-Houwink) y cromatografía de permeación en gel.

El monoterpeno polimérico, por ejemplo limoneno, puede existir en forma de diferentes isómeros geométricos, resultantes de la disposición de sustituyentes alrededor del doble enlace carbono-carbono. Dichos isómeros están diseñados como la configuración *cis* o *trans* (también denominados respectivamente como la configuración *Z* o *E*), donde *cis* (o *Z*) representa los sustituyentes en el mismo lado del doble enlace carbono-carbono, y *trans* (o *E*) representa los sustituyentes en lados opuestos del doble enlace carbono-carbono. Los diversos isómeros geométricos y mezclas de los mismos se incluyen dentro del alcance de la invención. En una realización particular, la composición comprende una pluralidad de isómeros geométricos.

El producto de monoterpeno polimérico puede contener uno o más átomos de carbono asimétricos y, por lo tanto, puede mostrar isomería óptica y/o diastereoisomería. Todos los estereoisómeros y diaestereoisómeros se incluyen dentro del alcance de la invención, ya sea en forma de un isómero individual o como una mezcla de formas isoméricas estereoquímicas. Los diversos estereoisómeros y diaestereoisómeros pueden separarse usando técnicas convencionales, por ejemplo cromatografía o cristalización fraccionada. Como alternativa, los isómeros ópticos deseados pueden hacerse por reacción de los materiales de partida ópticamente activos apropiados en condiciones que no provocarán racemización o epimerización, o por derivación, por ejemplo con un ácido homóquiral seguido de separación de los derivados diastereoméricos por medios convencionales. En una realización particular, la composición comprende una pluralidad de estereoisómeros y/o diaestereoisómeros.

En realizaciones particulares, el monoterpeno polimérico tiene una conformación lineal, una conformación ramificada, o una conformación cíclica.

Además, en el presente documento se describe al menos una forma oligomérica de los monoterpenos objeto. Las formas oligoméricas incluyen dímeros, trímeros, tetrámeros y pentámeros. Las composiciones pueden incluir adicionalmente una combinación de dichos oligómeros, del mismo monoterpeno o una mezcla de oligómeros formada de diferentes monoterpenos.

La forma oligomérica puede ser una combinación de dímeros y trímeros.

Los monoterpenos oligoméricos incluyen alocimeno oligomérico, limoneno oligomérico, α -pineno oligomérico, β -pineno oligomérico, acetato de geranilo oligomérico, α -felandreno oligomérico, γ -terpineno oligomérico, 3-careno oligomérico, 2-careno oligomérico.

El monoterpeno oligomérico puede seleccionarse entre alocimeno oligomérico y limoneno oligomérico.

Composiciones farmacéuticas y modos de administración

La composición para su uso en la invención comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de monoterpeno polimérico, y un vehículo farmacéuticamente aceptable. El vehículo es preferiblemente lipófilo.

Un vehículo adecuado comprende un aceite, tal como, por ejemplo un aceite mineral, un aceite vegetal o combinaciones de los mismos.

La expresión "aceite mineral" se refiere a un líquido transparente incoloro casi inodoro e insípido obtenido de la destilación de petróleo. También puede denominarse como aceite blanco, aceite mineral blanco, vaselina líquida, parafina líquida o aceite blanco de parafina. De acuerdo con una realización particular de la invención, el aceite mineral es aceite mineral ligero, un producto disponible en el mercado que puede obtenerse como un producto de calidad NF (Formulario Nacional) o como un producto de calidad USP (Farmacopea de Estados Unidos). Para su uso en la invención, el aceite mineral está preferiblemente libre de compuestos aromáticos e insaturados.

Los aceites vegetales adecuados incluyen, pero sin limitación, aceite de almendras, aceite de colza, aceite de coco, aceite de maíz, aceite de semilla de algodón, aceite de semilla de uva, aceite de oliva, aceite de cacahuete, aceite de azafrán, aceite de sésamo, aceite de soja, y combinaciones de los mismos. En una realización particular, el aceite mineral es aceite mineral ligero.

El vehículo farmacéuticamente aceptable puede comprender, como alternativa, o además, un reemplazo de aceite adecuado. Los reemplazos de aceite incluyen alcanos que tienen al menos 10 carbonos (por ejemplo, isohexadecano), benzoato ésteres, ésteres alifáticos, ésteres no comodogénicos, compuestos de silicona volátil (por ejemplo, ciclometicona), y sustitutos de silicona volátil. Los ejemplos de benzoato ésteres incluyen benzoato de alquilo $C_{12}C_{15}$, benzoato de isoestearilo, hexil benzoato de 2-etilo, benzoato de dipropilenglicol, benzoato de octildodecilo, benzoato de estearilo, y benzoato de behenilo. Los ejemplos de ésteres alifáticos incluyen octonoato de alquilo $C_{12}C_{15}$ y maleato de dioctilo. Los ejemplos de ésteres no comodogénicos incluyen isononanoato de isononilo, isononanoato de isodecilo, dilinoleato de dímero de diisostearilo, propionato de araquidilo e isononanoato de isotridecilo. Los ejemplos de sustitutos de silicona volátil incluyen decanoato de isohexilo, isononanoato de octilo, octanoato de isononilo, y dioctanoato de dietilenglicol.

La ciclometicona es una silicona evaporativa que puede incluirse en el vehículo para facilitar la preparación de la composición susceptible de eyección de un dispensador por pulverización. Además, debido a su propiedad evaporativa, la ciclometicona puede facilitar la retención y la fijación de la formulación sobre la superficie en la que se pulveriza, por ejemplo, un sitio de herida.

La composición farmacéutica puede formularse para su administración en cualquiera de varias formas, tal como, por ejemplo, una cápsula (incluyendo un cápsula de gel), un comprimido, un gel, un supositorio, una suspensión, una pulverización, una película, o una pomada. Las formulaciones pueden estar adicionalmente en forma de una o más de una solución, un liposoma, una emulsión, una microemulsión, un cemento, o un polvo. Preferiblemente, los oligómeros y polímeros se formulan por un proceso que protege contra y/o minimiza cualquier oxidación, reducción o precipitación.

Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden administrarse por cualquier medio que consiga su fin previsto. Por ejemplo, la administración puede ser por vía tópica, intramuscular, intravenosa, intraperitoneal, subcutánea, intradérmica, ectodérmica, mesodérmica, entodérmica, vaginal, rectal, intrauterina, intrauretral, intracardiaca, intracraneal, intranasal, intrapulmonar, intratecal, intraocular, intra-renal, intrahepática, intratendinosa y auricular.

Además, la administración puede comprender una técnica o medio, tal como electroporación, o sonicación para facilitar su administración, por ejemplo por vía transdérmica. La administración oral puede incluir el uso de una formulación protegida por liposoma como se ha descrito anteriormente. Otras técnicas que pueden emplearse incluyen, por ejemplo, radiofrecuencia o aplicación por rociado a presión.

La dosificación administrada dependerá de la edad, salud y peso del sujeto, el uso de tratamiento concomitante, si lo hubiera, la frecuencia del tratamiento, y la naturaleza del efecto deseado. La cantidad del monoterpeno polimérico de la presente invención en cualquier forma de dosificación unitaria comprende una cantidad terapéuticamente eficaz que puede variar dependiendo del sujeto receptor, la ruta y la frecuencia de administración.

En general, la cantidad de monoterpeno polimérico presente en la composición farmacéutica puede estar convenientemente en el intervalo de aproximadamente el 0,001 % a aproximadamente el 12 % en una base peso por peso, en base al peso total de la composición. Para su uso tópico, el porcentaje de monoterpeno polimérico en la composición puede estar en el intervalo de aproximadamente el 0,05 % a aproximadamente el 10 %. Para la administración por inyección, el porcentaje de monoterpeno polimérico en la composición puede estar convenientemente en el intervalo de aproximadamente el 0,1 % a aproximadamente el 7 %. Para la administración oral, el porcentaje de monoterpeno polimérico en la composición puede estar en el intervalo de aproximadamente el 0,005 % a aproximadamente el 10 %.

Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden fabricarse de una manera que se conoce por un experto en la técnica, por ejemplo, por medio de procesos convencionales de mezcla, granulación, preparación de grageas, encapsulación en gel, disolución, extracción o liofilización. Por lo tanto, las composiciones farmacéuticas para uso oral pueden obtenerse combinando los compuestos activos con excipientes sólidos y semi-sólidos y conservantes

adecuados, y/o antioxidantes protegidos de gases reactivos.

En las cápsulas blandas, los compuestos activos se disuelven o se suspenden preferiblemente en los lípidos adecuados, tales como aceites grasos, o parafina líquida o parafinas semisólidas, ceras, y una combinación de los mismos. Además, pueden añadirse estabilizantes y antioxidantes.

El vehículo comprende preferiblemente un vehículo basado en lípidos. Por ejemplo, la composición puede estar en forma de una emulsión o una microemulsión, basadas en lípidos polares y tensioactivos. Pueden incluirse adicionalmente potenciadores de la absorción.

Se forman comúnmente emulsiones de aceite en agua (a/a) a partir de uno o más aceites, uno o más tensioactivos, y una fase acuosa. Los aceites adecuados para su uso en emulsiones típicas incluyen aceite mineral, vegetal, animal, esencial y sintético, o mezclas de los mismos. En muchos casos, se usan aceites ricos en triglicéridos, tales como aceite de cártamo, aceite de semilla de algodón, aceite de oliva o aceite de soja. En su forma más sencilla, una formulación que contiene triglicéridos adecuada para administrar un agente terapéutico es una emulsión de aceite en agua que contiene el agente terapéutico. Dichas emulsiones contienen el agente terapéutico solubilizado en una fase de aceite que se dispersa en un entorno acuoso con la ayuda de un tensioactivo o una combinación de tensioactivos. Por lo tanto, un procedimiento es solubilizar un agente terapéutico en un aceite y dispersar esta fase oleosa en una solución acuosa. Dependiendo de si un aceite es un sólido o líquido a la temperatura ambiente, la emulsión de aceite en agua puede caracterizarse en forma de un particulado lipídico sólido. También se requieren tensioactivos para formar emulsiones sólidas. Con el fin evitar la precipitación de un fármaco en la interfaz lípido/agua, la dispersión puede estabilizarse mediante agentes emulsionantes y proporcionarse en forma de emulsión. Los fármacos disueltos en la fase oleosa o la fase nuclear lipídica sólida pueden dispersarse por fuerza mecánica para crear gotas o esferas suspendidas en la fase acuosa que son estables en almacenamiento en forma de una preparación farmacéutica.

La formación de una emulsión de aceite en agua estable puede mejorarse mediante el uso de tensioactivos que forman la interfaz entre el agente estrictamente hidrófobo y agua. Dependiendo de la naturaleza del aceite y uno o más tensioactivos, se forman gotas grandes características de emulsiones de aceite en agua o estructuras mucho más pequeñas características de microemulsiones o estructurales micelares. Puede obtenerse un control adicional sobre el tamaño de las gotas o las partículas por homogeneización a alta presión o fuerzas de cizalladura similares. Las partículas lipídicas se forman típicamente a temperaturas ambientes superiores para fundir los componentes hidrófobos.

Los sistemas de microemulsión son sistemas terciarios y cuaternarios formados típicamente a partir de una fase oleosa, un tensioactivo y agua. Por ejemplo, la Pat. de Estados Unidos Nº 5.707.648 describe microemulsiones que contienen una fase oleosa, una fase acuosa, y una mezcla de tensioactivos. Las microemulsiones son termodinámicamente estables, de tal forma que las gotas no se aglutinarán y precipitarán con el tiempo. El diámetro de las gotas de microemulsión está en el intervalo de 10 a 200 nanómetros, mientras que las gotas de emulsión son generalmente mayores de un micrómetro.

Se han descrito vehículos adecuados para formar las composiciones que comprenden monoterpenos, por ejemplo, en la Publicación de Solicitud de Patente de Estados Unidos Nº 2006/0104997.

Otras composiciones farmacéuticas para uso oral incluyen una película diseñada para adherirse a la mucosa oral, como se desvela, por ejemplo, en las Patentes de Estados Unidos Nº 4.713.243; 5.948.430; 6.177.096; 6.284.264; 6.592.887; y 6.709.671.

Las composiciones farmacéuticas en forma de supositorios consisten en una combinación del compuesto o compuestos activos con una base de supositorio. Las bases de supositorio adecuadas incluyen, por ejemplo, triglicéridos naturales o sintéticos, polietilenglicoles o hidrocarburos de parafina.

Las formulaciones para administración parenteral incluyen suspensiones y dispersiones de micropartículas de los compuestos activos según sea apropiado. En una realización particular, pueden administrarse suspensiones en inyección oleosa. Los disolventes lipófilos adecuados o vehículos incluyen aceites grasos, por ejemplo, aceite de sésamo, o ésteres de ácidos grasos sintéticos, por ejemplo, oleato de etilo, triglicéridos, polietilenglicol-400, cremophor, o ciclodextrinas. Las suspensiones en inyección que pueden contener sustancias que aumentan la viscosidad de la suspensión incluyen, por ejemplo, carboximetilcelulosa sódica, sorbitol y/o dextrano. Opcionalmente, la suspensión también puede contener estabilizantes.

Las composiciones farmacéuticas también pueden prepararse usando liposomas que comprenden el principio activo. Como se conoce en la técnica, los liposomas se obtienen generalmente a partir de fosfolípidos u otras sustancias lipídicas. Los liposomas se forman por cristales líquidos hidratados mono o multi-lamelares que se dispersan en un medio acuoso. Puede usarse cualquier lípido no tóxico, fisiológicamente aceptable y metabolizable capaz de formar

liposomas. En general, los lípidos preferidos son fosfolípidos y las fosfatidil colinas (lecitinas), tanto naturales como de forma sintética. Se conocen en la técnica métodos para formar liposomas, como se desvela, por ejemplo, en Prescott, Ed., *Methods in Cell Biology*, Volume. También pueden incluirse antioxidantes, así como agentes que imparten color o fragancia, si se desea. Pueden formularse pomadas, por ejemplo, mezclando una solución del principio activo en un aceite vegetal, tal como aceite de almendras con parafina blanda caliente, y dejando que la mezcla se enfríe.

La composición farmacéutica puede formularse en forma de un pegamento, tal como los que comprenden octocianoacrilato usado para aplicaciones de cierre de heridas. Estas etapas se toman después de que el material de monoterpeno polimérico se haya protegido mediante una envoltura lipófila e hidrófoba que forma una barrera entre el polímero activo y los excipientes adicionales deseados en la fórmula.

Usos terapéuticos

La presente invención proporciona composiciones para su uso en el tratamiento de la función neurológica alterada en un sujeto que necesita el mismo. Los usos comprenden administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición que comprende monoterpenos poliméricos, como se describe en el presente documento.

Se describe adicionalmente un método para tratar un trastorno cutáneo o del cuero cabelludo, que comprende administrar por vía tópica al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición que comprende monoterpenos oligoméricos o poliméricos, como se describe en el presente documento.

Se describe adicionalmente una composición para su uso en la inducción de un proceso regenerativo en un animal, que comprende administrar al animal una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición que comprende monoterpenos poliméricos, como se describe en el presente documento.

La etapa de administrar la composición puede comprender cualquier ruta aceptable que incluye oral, tópica, intramuscular, intravenosa, intraperitoneal, subcutánea, intradérmica, ectodérmica, mesodérmica, entodérmica, vaginal, rectal, intrauterina, intrauretral, intracardiaca, intracraneal, intramiocárdica, intranasal, intrapulmonar, intratecal, intraocular, intra-renal, intrahepática, intratendinosa y auricular.

En realizaciones particulares, la etapa de administración comprende poner en contacto células de un tipo particular, de un linaje particular o en una fase de diferenciación particular, con la composición. Las células pueden ser cualquiera de una gran diversidad de tipos celulares, incluyendo, en particular, células neurales, células neuronales, células endoteliales y células epiteliales. Además, las células pueden ser de cualquier linaje, por ejemplo, linajes ectodérmicos, mesodérmicos y entodérmicos. En diversas realizaciones, la etapa de poner en contacto las células se realiza *in vivo*, *ex vivo* o *in vitro*.

El método desvelado en el presente documento para tratar la función neurológica alterada es particularmente ventajoso para sujetos afectados por afecciones y enfermedades neurodegenerativas, incluyendo, en particular, demencia vascular, demencia senil, enfermedad de Alzheimer, esquizofrenia, esclerosis lateral amiotrófica (ALS), esclerosis múltiple y enfermedad de Parkinson. En otros casos, el método puede aplicarse ventajosamente en sujetos que padecen función neurológica alterada debido a una infección (por ejemplo, vírica, bacteriana, fúngica, parasitaria) o un trastorno inmunológico. En una realización particular, la función neurológica alterada se debe a la exposición a un fármaco, tal como un anestésico.

Los trastornos cutáneos o del cuero cabelludo incluyen todos los trastornos de piel, cuero cabelludo y apéndices pilosos, incluyendo, por ejemplo, uñas y folículos pilosos. Las afecciones particulares que pueden beneficiarse de la invención incluyen alopecia, eccema, psoriasis, acné, vitiligo, queratosis seborreica, seborrea y heridas de la piel. Las heridas de la piel incluyen úlceras venosas de la pierna, úlceras por presión, úlceras del pie en diabéticos, quemaduras, heridas por amputación, úlceras de decúbito (úlceras de cama), injertos de donante de espesor parcial, sitios de donante de injerto de piel, sitios de implante de dispositivos médicos, heridas por mordedura, heridas por congelación, heridas por punción, heridas de metralla, dermoabrasiones, heridas por infección y heridas quirúrgicas. Las heridas pueden ser el resultado de una infección; exposición a radiación ionizante; exposición a láser, o exposición a un agente químico.

Las composiciones descritas pueden ser particularmente eficaces y económicas para el tratamiento de heridas crónicas no cicatrizadas. Como se conoce por un experto en la técnica, las heridas no cicatrizadas se distinguen por diversos criterios, incluyendo la velocidad de cierre medida por longitud, anchura y profundidad de la herida en el tiempo.

La etapa de poner en contacto las células puede realizarse *in vitro* o *ex vivo*. En particular, las células, o un órgano o tejido obtenido de las mismas que se pretende implantar o trasplantar en el sujeto, puede tratarse de acuerdo con la invención. Por ejemplo, los explantes celulares o las células o tejidos cultivados y mantenidos en cultivo pueden

ponerse en contacto con la composición. Las células pueden originarse por ejemplo, a partir de células madre de un donante autólogo u homólogo, y están destinadas a la regeneración de órganos y/o la implantación en un receptor. En otros casos, las células son de un donante heterólogo y están destinadas a implantación o trasplante en un receptor. En una realización particular, las células son aquellas de un órgano o tejido de un donante heterólogo destinadas a la implantación o trasplante en un receptor. En una realización particular, las células son aquellas que secretan factores solubles.

El uso médico puede realizarse antes de o tras la implantación de un dispositivo médico en el sujeto. Los dispositivos médicos incluyen, pero sin limitación, una prótesis, un órgano artificial o componente del mismo, una válvula, un catéter, un tubo, una endoprótesis vascular, una membrana artificial, un marcapasos, un sensor, un endoscopio, un dispositivo de imagen, una bomba, un cable y un implante. Los implantes incluyen, pero sin limitación, un implante cardíaco, un implante coclear, un implante corneal, un implante craneal, un implante dental, un implante maxilofacial, un implante de órgano, un implante ortopédico, un implante vascular, un implante intraarticular y un implante de mama.

En una realización particular, es dispositivo médico es un implante de órgano, que puede comprender, en ciertos casos, células autólogas del sujeto.

En una realización particular, la etapa de puesta en contacto comprende un medio seleccionado entre el grupo que consiste en electroporación, sonicación, radiofrecuencia, rociado a presión y combinaciones de los mismos.

En una realización particular, la etapa de puesta en contacto comprende establecer un contacto entre el líquido intersticial o una superficie celular y la composición. Esto puede ser particularmente ventajoso para heridas que están rodeadas de líquido intersticial. El contacto entre el líquido intersticial y la composición puede realizarse por perforación y/o desgarro de la dermis con una aguja, una microaguja, o un aparato que comprende una pluralidad de agujas o microagujas. Dichas agujas o microagujas son preferiblemente no huecas, y pueden tener una pluralidad de formas, por ejemplo, un peine o un aparato tipo cepillo.

Los usos de la invención son adecuados para su aplicación en seres humanos, mamíferos no humanos, y sujetos no mamíferos, tales como peces y aves.

Artículos de fabricación

La invención puede incluir el uso de un artículo de fabricación que incorpora la composición que comprende los monoterpenos poliméricos descritos en el presente documento.

La composición farmacéutica puede estar en forma de un revestimiento en el artículo de fabricación, y puede estar contenido dentro de un recipiente que está integrado al artículo de fabricación. La composición farmacéutica está presente ventajosamente como un revestimiento en dispositivos que se insertan en el cuerpo y están diseñados para su integración en el mismo, por ejemplo, un implante. Por lo tanto, la composición farmacéutica puede promover el cierre tisular sobre el implante debido a la actividad de los monoterpenos poliméricos en la inducción de la diferenciación celular o la regeneración que conduce a la reparación del tejido atrófico.

La composición farmacéutica puede incorporarse ventajosamente sobre o en artículos usados en la cicatrización de heridas, por ejemplo, un apósito o vendaje. Por lo tanto, la composición farmacéutica puede promover la cicatrización de heridas debido a la actividad del monoterpeno polimérico en la inducción de la diferenciación celular.

En otros casos, la composición farmacéutica puede incorporarse en un dispositivo de administración, tal como una aguja, un dispositivo de inyección o un dispensador por pulverización desde el cual se administra la composición en un sitio del cuerpo que requiera terapia, por ejemplo, un sitio de herida.

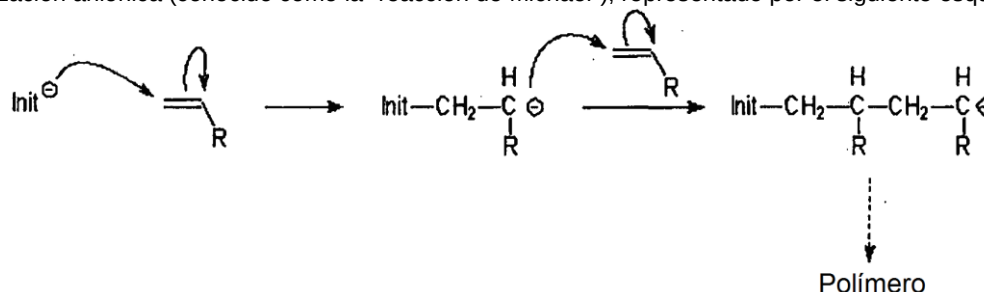
Los artículos de fabricación incluyen, pero sin limitación, un artículo de tela, un pañal, un vendaje para heridas, un dispositivo médico, una aguja, una microaguja, un dispositivo de inyección y un dispensador por pulverización. En una realización particular, el artículo de fabricación comprende una pluralidad de microagujas. Los dispositivos médicos e implantes son como se han descrito anteriormente en el presente documento.

Los siguientes ejemplos se presentan para ilustrar más completamente ciertas realizaciones de la invención. Sin embargo, de ningún modo no deben interpretarse como limitantes del amplio alcance de la invención. Un experto en la técnica puede elaborar fácilmente muchas variaciones o modificaciones de los principios desvelados en el presente documento.

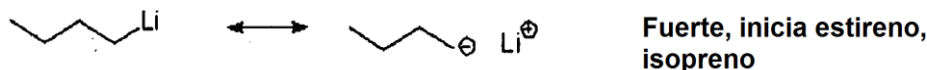
Ejemplos

Ejemplo 1. Polimerización iniciada por base de monoterpenos acíclicos.

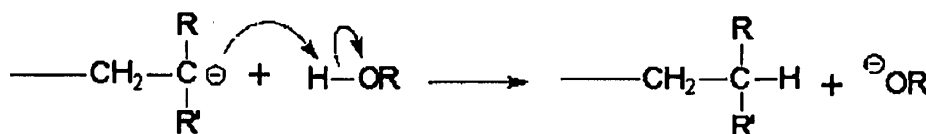
- 5 La reacción sintética usada para los monoterpenos acíclicos poliméricos, tal como alocimeno, implica un mecanismo de polimerización aniónica (conocido como la "reacción de Michael"), representado por el siguiente esquema:



- 10 Para que la iniciación sea un éxito, la energía libre de la etapa de iniciación debe ser favorable. Por lo tanto, es necesario emparejar el monómero con la fuerza apropiada del iniciador de manera que la primera adición sea "cuesta abajo". Una reacción aniónica típica es la polimerización de estireno usando butil litio, C_4H_9Li , en un disolvente inerte, tal como *n*-hexano.



- 15 Cuando se realizan en las condiciones apropiadas, las reacciones de terminación no se producen en la polimerización aniónica. Se añade típicamente un compuesto, tal como agua o alcohol para terminar el proceso. La nueva especie aniónica es demasiado débil para el reinicio, como se muestra en el siguiente esquema.



- 20 Los compuestos tales como agua, alcoholes, oxígeno molecular, dióxido de carbono, etc., reaccionan muy rápidamente con los carbaniones en los extremos de cadena, terminando la propagación. Dado que los extremos de cadena son relativamente pocos, únicamente ha de estar presente una cantidad de agua muy pequeña para terminar la realización de polimerización. La terminación no se produce por la interacción polímero-polímero.

- 25 La polimerización aniónica da lugar a distribuciones de masa molecular muy marcadas ya que los procesos de transferencia están ausentes. Si el disolvente es extremadamente puro, las cadenas poliméricas aún estarán activas después de que se haya consumido todo el monómero.

- 30 El grado de polimerización es sencillamente:

$$n = \frac{[M]}{[I]}$$

- 35 Como se ha indicado anteriormente, el butil litio es un iniciador apropiado para la polimerización aniónica para moléculas que contienen isopreno, tales como terpenos. Por lo tanto, se ha usado en la síntesis de los polímeros descritos en el presente documento. Ventajosamente, el procedimiento que se ha descrito anteriormente no requiere ningún tipo de tratamiento aparte de la evaporación y el reemplazo de disolvente.

- 40 Aunque el procedimiento que se ha descrito anteriormente se desvela generalmente en la técnica anterior (véase, por ejemplo, Newmark y col., (1988) J. Polym Sci. 26: 71-77), las modificaciones importantes desveladas en el presente documento son el tratamiento con una alta dilución de hexano, y la etapa final de cambiar el disolvente por aceite, para obtener el polímero puro que conserva su actividad biológica con alta potencia.

- 45 Ejemplo 2. Polimerización catalizada con ácido de α -pineno.

Se añadieron tolueno (20 ml), $AlCl_3$ (150 mg, 1,2 mMol) y $SbCl_3$ (121 mg, 0,6 mMol) en un matraz de 3 bocas

equipado con un condensador y en una atmósfera de N₂. La mezcla de reacción se enfrió a -15 °C. Después, se añadieron 5 g (0,36 mol) de α -pineno. La reacción se agitó durante 4 h a -30 °C. El catalizador se retiró por filtración y el disolvente y otros volátiles se evaporaron aplicando vacío. El análisis por SEC indicó que el producto polimérico obtenido tenía un peso molecular en el intervalo de 10-0,5 kDa.

Ejemplo 3. Polimerización catalizada con ácido de alocimeno.

Se añadieron tolueno (20 ml) y eterato de trifluoruro de boro (BF₃·O(Et)₂; 0,1 ml 0,8 mMol) en un matraz de 3 bocas equipado con un condensador y en una atmósfera de N₂. La mezcla de reacción se enfrió a -30 °C. Después, se añadieron 5 g (36 mmol) de alocimeno. La reacción se agitó durante 4 h a -30 °C. El material insoluble se retiró por filtración y el disolvente y otros volátiles se evaporaron aplicando vacío. El análisis por SEC (figura 5) indicó que el producto polimérico obtenido tenía un peso molecular en el intervalo de 2-10 kDa.

Ejemplo 4. Fotopolimerización de acetato de geranilo usando peróxido de benzoílo.

Se añadieron heptano (20 ml) y peróxido de benzoílo (1 mMol) en un matraz de 3 bocas equipado con un condensador y en una atmósfera de N₂. Después, se añadieron 5 g (25 mmol) de acetato de geranilo. La reacción se calentó a reflujo durante 4 h. El material insoluble se retiró por filtración y el disolvente y otros volátiles se evaporaron aplicando vacío. El análisis por SEC indicó que el producto oligomérico obtenido tenía un peso molecular en el intervalo de 0,3-0,5 kDa.

Ejemplo 5. Polimerización catalizada por ácido de limoneno.

Se añadieron tolueno (20 ml) y BF₃·O(Et)₂ (0,1 ml 0,8 mMol) en un matraz de 3 bocas equipado con un condensador y en una atmósfera de N₂. La mezcla de reacción se enfrió a -70 °C. Después, se añadieron 5 g (36 mmol) de limoneno. La reacción se agitó durante 4 h a -70 °C. El material insoluble se retiró por filtración y el disolvente y otros volátiles se evaporaron aplicando vacío. El análisis por SEC (figura 6) indicó que el producto polimérico obtenido tenía un peso molecular en el intervalo de 2-5 kDa.

Ejemplo 6. Polimerización catalizada con ácido de β -pineno.

Se añadieron tolueno (20 ml), AlCl₃ (0,8 mMol) y SbCl₃ (0,4 mMol) en un matraz de 3 bocas equipado con un condensador y en una atmósfera de N₂. La mezcla de reacción se enfrió a -20 °C. Después, se añadieron 5 g (36 mmol) de α -pineno. La reacción se agitó durante 4 h a -20 °C. El material insoluble se retiró por filtración y el disolvente y otros volátiles se evaporaron aplicando vacío. El análisis por SEC indicó que el producto obtenido era una mezcla de oligómeros y polímero de un peso molecular en el intervalo de 0,5-4,5 kDa.

Ejemplo 7. Polimerización catalizada con ácido de γ -terpineno.

Se añadieron tolueno (20 ml) y SnCl₄ (1 mMol) en un matraz de 3 bocas equipado con un condensador y en una atmósfera de N₂. La mezcla de reacción se enfrió a -20 °C. Después, se añadieron 5 g (36 mmol) de γ -terpineno. La reacción se agitó durante 4 h a -20 °C. El material insoluble se retiró por filtración y el disolvente y otros volátiles se evaporaron aplicando vacío. El análisis por SEC indicó que la mezcla de oligómeros obtenida tenía un peso molecular de aproximadamente 0,5 kDa.

Ejemplo de Referencia 8. Oligomerización catalizada con ácido de 3-careno.

Se añadieron tolueno (20 ml) y AlCl₃ (1 mMol) en un matraz de 3 bocas equipado con un condensador y en una atmósfera de N₂. La mezcla de reacción se enfrió a -30 °C. Después, se añadieron 5 g (36 mmol) de 3-careno. La reacción se agitó durante 4 h a -30 °C. El material insoluble se retiró por filtración y el disolvente y otros volátiles se evaporaron aplicando vacío. El análisis por SEC indicó que el producto obtenido era una mezcla de dímeros y trímeros.

Ejemplo 9. Polimerización catalizada con ácido de α -felandreno.

Se añadieron tolueno (20 ml) y AlCl₃ (1,2 mMol) en un matraz de 3 bocas equipado con un condensador y en una atmósfera de N₂. La mezcla de reacción se enfrió a -70 °C. Después, se añadieron 5 g (36 mmol) de α -felandreno. La reacción se agitó durante 4 h a -70 °C. El material insoluble se retiró por filtración y el disolvente y otros volátiles se evaporaron aplicando vacío. El análisis por SEC indicó que el producto polimérico obtenido tenía un peso molecular de aproximadamente 1 kDa.

Ejemplo 10. Polimerización de γ -terpineno usando peróxido de benzoílo como el iniciador radicalario.

Se añadieron heptano (20 ml) y peróxido de benzoílo (1 mMol) en un matraz de 3 bocas equipado con un

condensador y en una atmósfera de N₂. Después, se añadieron 5 g (36 mmol) de γ -terpineno. La reacción se calentó a reflujo durante 4 h. El material insoluble se retiró por filtración y el disolvente y otros volátiles se evaporaron aplicando vacío. El análisis por SEC indicó que el producto oligomérico obtenido tenía un peso molecular en el intervalo de 0,4-0,5 kDa.

Ejemplo 11. Las formas poliméricas de limoneno y de alocimeno inducen la diferenciación de tipo neuronal en cultivos de células epiteliales de pigmento retinal.

Resumen

La presente invención se refiere a una inducción de la diferenciación y la maduración celular, y tiene aplicación directa en la regeneración de un tejido funciona, en particular tejido neuronal. Estos hallazgos experimentales muestran que los terpenos poliméricos ensayados, que incluyen limoneno, alocimeno, pineno y geranilo, inducen la diferenciación de células epiteliales de pigmento retinal, un tejido epitelial de origen neuronal, en células neuronales morfológicas que producen axones, dendritas y conexiones entre las células conocidas como sinapsis. La diferenciación morfológica en células tratadas va acompañada por expresión *de novo* de la tubulina β 3 de antígeno de diferenciación específica de neuronas. La inducción de diferenciación en las células neuronales sugiere fuertemente que los polímeros afectan a la diferenciación de las células madre neuronales en neuronas funcionales.

El dogma actual sobre la patología de la demencia y la enfermedad de Alzheimer sostiene que la deficiencia implica el fallo de las neuronas para formar conexiones sinápticas funcionales (Kimura R, Ohno M. Impairments in remote memory stabilization precede hippocampal synaptic and cognitive failures in 5XFAD Alzheimer mouse model. Neurobiol Dis. 5 de noviembre de 2008).

Por consiguiente, los experimentos descritos en el presente documento apoyan el uso de terpenos poliméricos, como una modalidad terapéutica para obtener la neuro-regeneración en enfermedades neurodegenerativas, tales como demencia y enfermedad de Alzheimer.

Células epiteliales del pigmento retinal (RPE)

Estudios dirigidos a evaluar los efectos de los monoterpenos poliméricos sobre diversas líneas celulares de origen humano conducen al uso de células ARPE-19, una línea de células epiteliales del pigmento retinal humano no maligna.

El epitelio pigmentario retinal (RPE) es una capa individual de células epiteliales pigmentadas hexagonales de origen neuronal, que forma la capa celular externa de la retina del ojo y está única a la coroides subyacente. Las funciones del RPE incluyen el soporte, nutrición y protección de los fotorreceptores subyacentes de la neuro-retina.

Las células RPE están implicadas en la fagocitosis del segmento externo de las células fotorreceptoras, en el ciclo de la vitamina A donde isomerizan todo-trans retinol en 11-cis retinal, y en la alimentación de los fotorreceptores con D-glucosa, aminoácidos y ácido ascórbico.

Aunque *in vivo* el RPE está pigmentado, las células ARPE-19 no forman melanina y no están pigmentadas. En el cultivo, las células crecen con forma de husillo y como células poligonales.

Métodos

Las células ARPE-19 (obtenidas de la Colección Americana de Cultivos Tipo, ATCC) se colocaron en placas en microplacas de cultivo tisular de 96 pocillos con el fondo plano (Costar) a una concentración de $2-5 \times 10^3$ células por pocillo ($1-2,5 \times 10^4$ células/ml) en un medio de crecimiento que consistía en DMEM:Ham F-12, 1:1, complementado con suero fetal bovino al 10 %, glutamina 200 mM, 100 unidades/ml de penicilina y 100 μ g/ml de estreptomicina. Se dejó a las células adherirse a la superficie de las placas durante una noche antes del tratamiento con monoterpeno polimérico.

Cada tipo de monoterpeno polimérico se sintetizó para proporcionar una solución al 10 % en aceite de semilla de uva, aceite de oliva, Mygliol 810 o Mygliol 812. Las preparaciones se añadieron a los cultivos a volúmenes de 0,5 μ l, 2 μ l, 5 μ l y 20 μ l. Estos volúmenes, introducidos en un volumen de medio de muestra total de 200 μ l, corresponden a concentraciones de alocimeno finales del 0,025 %, 0,1 %, 0,25 % y el 1 %, respectivamente. El vehículo de aceite sirvió como vehículo de control y se aplicó a cultivos de control a los mismos volúmenes.

Los cultivos se incubaron en una incubadora de CO₂ al 5 % a 37 °C durante 72 h. Después, el medio se eliminó, el cultivo se lavó dos veces con solución salina tamponada con fosfato (PBS), se fijó con metanol absoluto durante 10 min y se tiñó con reactivos Hemacolor® (Boehringer Mannheim), que tiñeron las células de una manera similar a Giemsa, y pueden usarse en un ensayo de viabilidad celular cuantitativo (véase Keisari, Y. A colorimetric microtiter

assay for the quantitation of cytokine activity on adherent cells in tissue culture. J. Immunol. Methods 146, 155-161, 1992). El grado de diferenciación se determinó por microscopía óptica.

Se descubrió inesperadamente que el tratamiento de células ARPE-19 de RPE con los monoterpenos poliméricos indujo cambios morfológicos drásticos que son una característica inequívoca de la neuro-diferenciación. Los cambios morfológicos no se produjeron en los cultivos de control tratados con el vehículo de aceite en solitario, independientemente del aceite usado como vehículo para el compuesto activo. Los cambios morfológicos también se asociaron al cese de la proliferación celular, sosteniendo adicionalmente la conclusión de que los monoterpenos poliméricos incluyen la neuro-diferenciación.

La figura 2 muestra el efecto del limoneno polimérico en las células ARPE-19 de RPE. Los cultivos tratados con aceite de control mostraron la forma de husillo típica y un patrón de crecimiento poligonal característico de las células ARPE-19 de RPE (figura 2B). Después de 72 horas de incubación, las células tratadas con polímero (0,025 %; 0,25 mg/ml) mostraron un mayor número de salientes largos más estrechos que recuerdan a las dendritas (figura 2A). Los largos y estrechos salientes formaron conexiones con salientes similares en células adyacentes creando una red de células interconectadas, potencialmente capaces de comunicar información entre sí. Normalmente se producen redes similares entre neuronas en el sistema nervioso central y permiten la transmisión y el procesamiento de información.

Los experimentos realizados usando preparaciones oxidadas de limoneno polimérico no indujeron tal diferenciación.

La figura 3 muestra el efecto del alocimeno polimérico en las células ARPE-19 de RPE. La figura 3A muestra que las células que se trataron con alocimeno polimérico mostraron cambios de tipo diferenciación, mientras que las células que se trataron con vehículo (aceite de semilla de algodón) en solitario, no mostraron dichos cambios (figura 3B).

La figura 4 muestra una comparación de los efectos del alocimeno polimérico y el alocimeno monomérico en las células ARPE-19 de RPE. La figura 4A muestra que las células ARPE-19 de RPE tratadas con alocimeno polimérico mostraron evidencia de diferenciación, mientras que las células tratadas con alocimeno monomérico (figura 4B) o con vehículo de aceite de semilla de algodón (figura 4C) no mostraron tales efectos.

Un sistema de puntuación para la potencia de los monoterpenos poliméricos en la inducción de la diferenciación celular

En base a los resultados anteriores, se desarrolló un sistema de puntuación para evaluar la potencia de los monoterpenos poliméricos para la inducción de la diferenciación en un cultivo celular, con células colocadas en placas, 2 x 10³ por pocillos. Los grados y sus respectivas descripciones se exponen en la Tabla 1.

Tabla 1.

Efecto	Grado												
Velocidad de proliferación	Alto = 0 Medio = 1 Bajo = 2	0	0	0	1	1	1	2	1	2	1	2	
Las células forman salientes alargados	No = 0 salientes = 1 tipo neurona = 2	0	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	
Relación neuritas (elongaciones tipo neurona)/cuerpo	≤2 = 0 >2≤3 = 1 >3 = 4	0	0	0	0	1	1	1	1	1	4	4	
Porcentaje de células diferenciadas	≤10 % = 0 >10 % ≤30 % = 1 >30 % ≤70 % = 2 ≥70 % = 3	0	0	0	0	0	1	1	2	2	2	3	
Conexiones claramente visibles entre las neuritas y/o los cuerpos celulares	≤30 %, = 0 >30 % <70 %, = 1 ≥70 % = 2	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	2	
Botones tipo sináptico visibles claros transparentes a lo largo de las neuritas y en los extremos de las neuritas.	<30 % = 0 >30 % <50 % = 1 ≥70 % = 2	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	
Grado de Diferenciación Total	0	1	1	2	3	4	5	6	10	11	15		
Puntuación de Diferenciación	0	1	2	3	4	5							

Ejemplo de Referencia 12. El alocimeno polimérico induce la diferenciación celular seguida de muerte celular en líneas celulares tumorales

Se investigaron los efectos del alocimeno polimérico en dos líneas celulares de melanoma y tres líneas celulares de neuroblastoma. Tanto la línea celular de melanoma humano 5151 como la línea celular de melanoma murino B16F10 proliferan en cultivo tisular de manera no diferenciada y no producen melanina. Las líneas celulares de neuroblastoma humano Lan-1 Lan-5 y SY5Y proliferan en cultivo como células con forma de husillo que no muestran

morfología de diferenciación.

Métodos

5 Las células se pusieron en placas a 2×10^3 células por pocillo en microplacas con fondo plano de 96 pocillos (Costar) y se cultivaron en 200 microlitros de medio DMEM (medio de Dulbecco) complementado con suero fetal bovino 10, L-glutamina 200 mM, 100 unidades/ml de penicilina y 100 microgramos/ml de estreptomicina (todos los reactivos de Gibco-BRL). Tras una adhesión durante una noche, se añadió alocimeno polimérico (de una solución al 10 % en aceite de semilla de uva) a los cultivos celulares para proporcionar concentraciones finales del 0,025 %, 10 0,1 %, 0,25 % y el 0,5 %, y la incubación continuó durante 48 y 72 horas. El vehículo de aceite de semilla de uva se usó como control. Después de 72 horas, las células se fijaron con metanol y se tiñeron con reactivos Hemacolor® (Boehringer Mannheim).

Resultados

15 Se descubrió que el tratamiento de células de melanoma con alocimeno polimérico indujo la formación de melanina después de 24-48 h, en comparación con las células tratadas con control. El tratamiento polimérico causó adicionalmente la detención de la replicación, como se muestra por el descenso de la densidad celular. En 72 horas, se produjo la muerte celular en los cultivos incubados con cada una de las cuatro concentraciones poliméricas ensayadas. 20

Tras el tratamiento de las líneas celulares de neuroblastoma Lan-1 Lan-5 y SY5Y con alocimeno polimérico (concentración final al 0,025 %), las células comenzaron a desarrollar salientes tipo dendritas y la proliferación celular se detuvo. Mayores concentraciones causaron la muerte celular en todo el cultivo. Por lo tanto, el tratamiento 25 con alocimeno polimérico indujo las características de diferenciación tipo neuronal morfológicas que se siguieron de muerte celular.

Conclusión

30 El alocimeno polimérico es eficaz para inducir la diferenciación de las líneas celulares obtenidas a partir del melanoma y neuroblastoma de cánceres malignos.

Un bloqueo en la diferenciación terminal se reconoce como una vía importante en la perpetuación de la proliferación celular en el cáncer. Ya se ha demostrado que superar este bloqueo es una modalidad de tratamiento eficaz de 35 varias formas de cáncer (por ejemplo, retinoides en el tratamiento de leucemia promielocítica aguda) y ahora se conoce como "terapia dirigida". Las terapias dirigidas no matan las células cancerosas, sino que modifican su comportamiento, principalmente induciendo la diferenciación. Por consiguiente, la agresividad de muchos cánceres puede reducirse.

40 Como se desvela en el presente documento, se descubrió que un monoterpene polimérico supera el bloqueo en la diferenciación de células tumorales, como se indica por la formación de dendritas de células neuronales en las líneas celulares de neuroblastoma, y la inducción de la formación de melanina en las líneas celulares de melanoma. En ambos casos, estos cambios se asociaron al cese de la proliferación celular y la muerte celular.

45 Ejemplo 13. Las formas poliméricas químicamente sintetizadas de alocimeno, limoneno, pineno, o acetato de geranilo inducen la diferenciación celular en cultivos de células epiteliales del pigmento retinal.

Las formas químicamente sintetizadas de limoneno, acetato de geranilo, pineno y alocimeno se usaron por separado. Las células se pusieron en placas en microplacas para cultivo tisular de 96 pocillos con fondo plano 50 (BIOFIL) a una concentración de 5×10^3 células por pocillo ($2,5 \times 10^4$ células/ml) en un medio de crecimiento que consistía en DMEM:Ham F-12, 1:1, complementado con suero fetal bovino al 10 %, glutamina 200 mM, 100 unidades/ml de penicilina y 100 µg/ml de estreptomicina. Se dejó a las células adherirse a la superficie de las placas durante una noche antes del tratamiento con los polímeros químicamente sintetizados.

55 Los cultivos se incubaron en una incubadora de CO₂ al 5 % a 37 °C durante 72 h. Después, el medio se eliminó, el cultivo se lavó dos veces con solución salina tamponada con fosfato (PBS), se fijó con metanol absoluto durante 10 min y se tiñó con reactivos Hemacolor®.

Resultados

60 Todos los polímeros que se han mencionado anteriormente mostraron que tenían actividad en la inducción de la neurodiferenciación en células ARPE-19.

Conclusión

Los resultados observados respaldan la conclusión de que los monoterpenos poliméricos químicamente sintetizados tienen actividad en la inducción de la diferenciación de las células neuronales.

Ejemplo 14. Comparación de alocimeno polimérico con alocimeno monomérico en la inducción de la diferenciación celular en cultivos de células epiteliales del pigmento retinal.

El procedimiento experimental fue idéntico al descrito en el Ejemplo 13. La figura 4A muestra que el alocimeno polimérico indujo una neuro-diferenciación mientras que el alocimeno monomérico (figura 4B) no tiene ninguna influencia en las células, similar a los resultados observados con células que se trataron únicamente con vehículo (figura 4C).

Los resultados observados respaldan la conclusión de que el alocimeno polimérico químicamente sintetizado tiene actividad en la inducción de la diferenciación de células neuronales. Por el contrario, el alocimeno monomérico no muestra esta actividad.

Ejemplo de Referencia 15. Cicatrización en perros.

Un perro hembra con una herida crónica abierta durante más de tres meses que resistió al tratamiento típico estándar se trató por tratamiento tópico con alocimeno polimérico sintético. El tratamiento dio como resultado un rápido cierre de la herida partiendo de una rápida epitelización y la formación de tejido de granulación, apreciable en tres días. La herida se curó completamente en 4 semanas. Sorprendentemente, un tejido sin cicatriz cubrió la herida. La cicatrización se contrajo hacia dentro hacia el centro de la herida, lo que sugería la presencia de fibro-miocitos (de origen mesodérmico). Se informaron resultados similares por un veterinario que trató una herida no cicatrizada en la pata de un caballo. En ambos casos, la piel alrededor de la herida comenzó a mostrar la renovación de la piel joven.

En otro perro macho mayor afectado por alopecia, el tratamiento tópico con alocimeno polimérico dio como resultado el crecimiento de la piel hasta integrarse con la piel circundante.

Ejemplo de Referencia 16. El tratamiento de heridas en peces.

El pez Goldfish, así como el pez koi (ambos de la familia de las carpas) son propensos a úlceras tegumentosas causadas por bacterias, en particular *Aeuromonas hydrophila*.

Los peces Goldfish con un peso de aproximadamente 100 gramos cada uno, que habían desarrollado úlceras bacterianas, se dividieron en dos grupos en tanques separados, conteniendo cada grupo cuatro peces. Cada tanque se llenó con un volumen de 100 litros de agua y se mantuvo en aireación con una bomba de aire. Los grupos se aleatorizaron por peso y tamaño de la herida (en el intervalo de 0,7-1,5 cm por 0,7-1,5 cm). A cada pez se le inyectaron por vía muscular a través del tegumento intacto en un sitio aproximadamente 5 mm de una úlcera, 10 microlitros de aceite de semilla de uva en solitario (grupo de control), o una solución al 1 % de cada uno de alocimeno polimérico y limoneno (como se describe en los Ejemplos 3 y 5) en aceite de semilla de uva (grupo de tratamiento).

Los peces en el grupo de ensayo comenzaron a mejorar progresivamente tras 4 ciclos semanales de tratamiento con los monoterpenos polimerizados y se curaron durante un periodo de 4-6 semanas. Todos los peces de este grupo sobrevivieron a lo largo de las 7 semanas de duración del estudio. Estos peces también mostraron una conducta de alerta y responsiva, incluyendo nado activo, búsqueda y arrebatamiento del alimento proporcionado en la superficie del agua, y movimiento rápido asustado en respuesta a la percusión en la pared del tanque.

Por el contrario, los peces del grupo de control no mostraron ninguna mejoría en la condición de sus úlceras. Los peces estaban letárgicos, mostraron una conducta sedentaria en el fondo del tanque, y no respondieron a la estimulación. Todos los peces de este grupo murieron transcurridas seis semanas.

Las diferencias entre estos dos grupos fueron altamente significativas en ambos parámetros: supervivencia de los peces y cierre de heridas. Además, el grupo tratado mostró más en actividad en la reacción a estímulos tales como estado de alerta con respecto a la alimentación suministrada y percusión en la pared del tanque.

REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica para su uso terapéutico en el tratamiento de la función neurológica alterada, en la que la composición farmacéutica comprende al menos una forma polimérica de un monoterpeno, en la que el monoterpeno se selecciona entre el grupo que consiste en alocimeno, limoneno, α -pineno, β -pineno, acetato de geranilo, 3-careno y 2-careno, y un vehículo farmacéuticamente aceptable; y en la que la composición está desprovista sustancialmente de la forma monomérica correspondiente de dicho monoterpeno.
2. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la función neurológica alterada se asocia a una afección seleccionada entre el grupo que consiste en demencia vascular, demencia senil, enfermedad de Alzheimer, esquizofrenia, esclerosis lateral amiotrófica (ALS), enfermedad de Huntington, esclerosis múltiple y enfermedad de Parkinson.
3. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la composición comprende un monoterpeno polimérico seleccionado el grupo que consiste en alocimeno polimérico, limoneno polimérico, α -pineno polimérico, β -pineno polimérico, acetato de geranilo polimérico, 3-careno polimérico, 2-careno polimérico, y combinaciones de los mismos.
4. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 3, en la que la composición comprende de aproximadamente el 0,01 a aproximadamente el 12 % (p/p) de dicho monoterpeno polimérico, en base al peso total de la composición.
5. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la composición comprende una pluralidad de isómeros de dicho monoterpeno, en la que la pluralidad de isómeros se selecciona entre isómeros geométricos, estereoisómeros, diaestereoisómeros y combinaciones de los mismos.
6. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 3, en la que el monoterpeno polimérico tiene un grado de polimerización en el intervalo de al menos aproximadamente 6 a aproximadamente 200.
7. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 6, en la que el grado de polimerización es al menos aproximadamente 25; o en la que el grado de polimerización está en el intervalo de aproximadamente 6 a aproximadamente 50.
8. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 3, en la que el monoterpeno polimérico tiene un peso molecular medio en número de al menos aproximadamente 3000.
9. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 3, en la que el monoterpeno polimérico tiene un peso molecular medio en número en el intervalo de al menos aproximadamente 1000 a aproximadamente 25.000; preferiblemente en la que el peso molecular medio en número está en un intervalo seleccionado entre el grupo que consiste en al menos aproximadamente 1000 a aproximadamente 5000; de al menos aproximadamente 1000 a aproximadamente 15.000; de aproximadamente 5000 a aproximadamente 15.000; de aproximadamente 5000 a aproximadamente 20.000; de aproximadamente 15.000 a aproximadamente 25.000, y combinaciones de los mismos.
10. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 3, en la que el monoterpeno polimérico es el producto de la síntesis química seleccionada entre el grupo que consiste en una reacción de polimerización aniónica, una reacción de polimerización catiónica, una polimerización radicalaria, una polimerización catalizada con metal y una reacción de fotopolimerización.
11. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 10, en la que la síntesis química comprende el uso de un monoterpeno monomérico como un sustrato, y en la que el monoterpeno monomérico se selecciona entre el grupo que consiste en alocimeno, limoneno, α -pineno, β -pineno, acetato de geranilo, 3-careno y 2-careno.
12. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 11, en la que el sustrato de monoterpeno monomérico se obtiene a partir de una especie vegetal.
13. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la composición comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable que comprende al menos un aceite o cera; preferiblemente en la que el aceite es un aceite vegetal seleccionado entre el grupo que consiste en aceite de almendras, aceite de colza, aceite de coco, aceite de maíz, aceite de semilla de algodón, aceite de semilla de uva, aceite de oliva, aceite de cacahuete, aceite de azafrán, aceite de sésamo, aceite de soja, y combinaciones de los mismos.

14. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la composición farmacéutica se va a administrar por una ruta que es distinta de una ruta oral o enteral; o en la que la composición farmacéutica se va a administrar por una ruta seleccionada entre el grupo que consiste en tópica, intramuscular, intravenosa, intraperitoneal, subcutánea, intradérmica, vaginal, rectal, intracraneal, intranasal, intraocular y auricular.

5 15. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la composición farmacéutica se va a administrar poniendo en contacto las células de un sujeto con la composición farmacéutica, y en la que las células se seleccionan entre el grupo que consiste en células neurales, células neuronales, células endoteliales, células epiteliales, células de linaje ectodérmico, células de linaje mesodérmico y células de linaje entodérmico; y en la que la etapa de poner en contacto las células se realiza *ex vivo* o *in vitro* y, por lo tanto, dichas
10 células se trasplantan o se implantan en el sujeto.

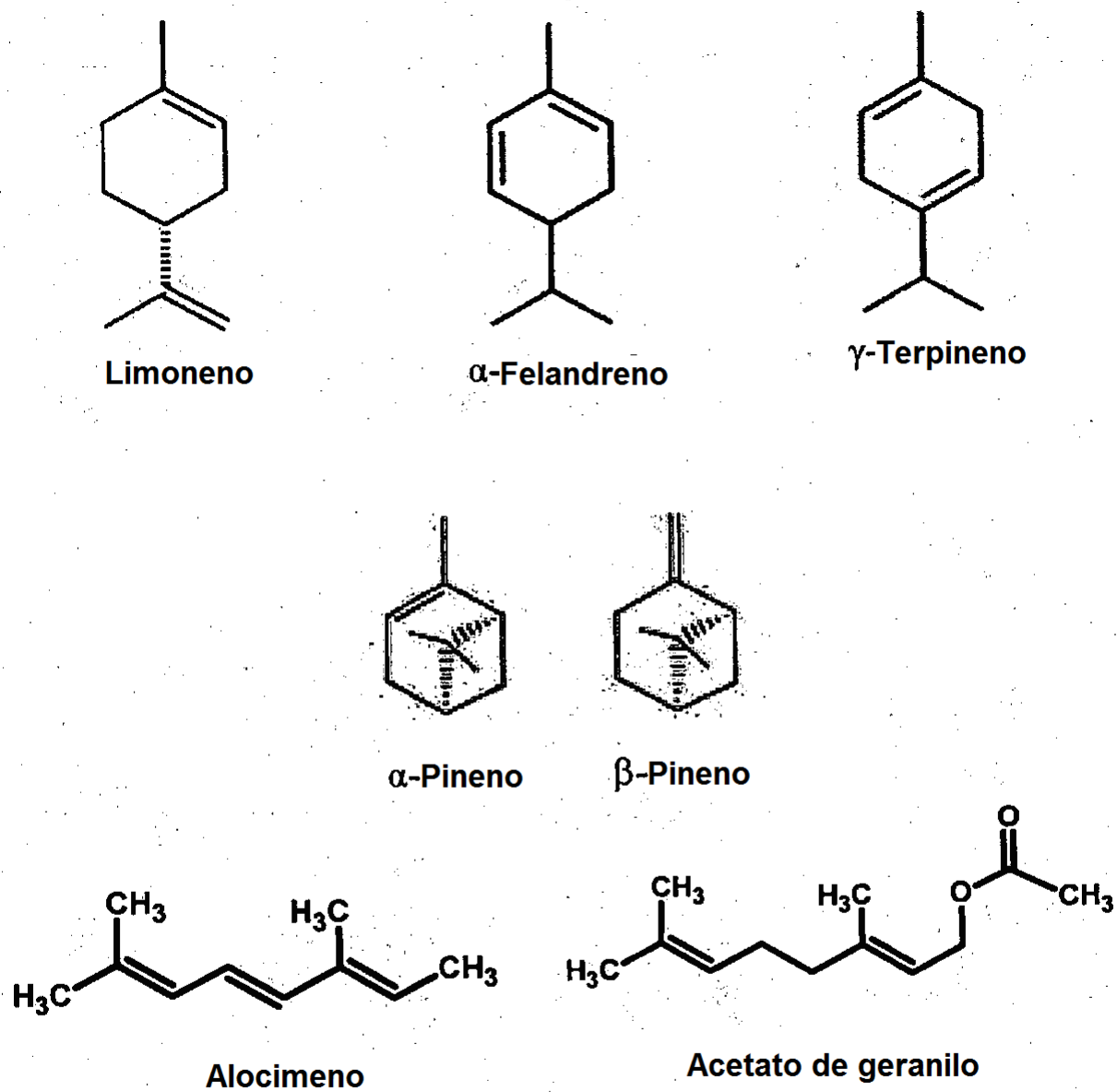


FIGURA 1

Fig. 2A



Fig. 2B

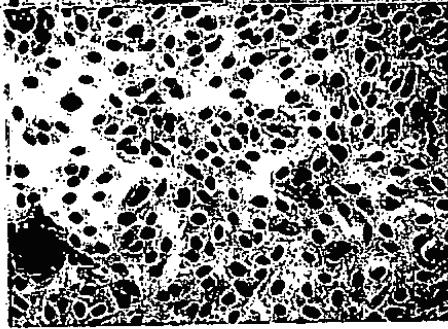


FIGURA 2

Fig. 3A

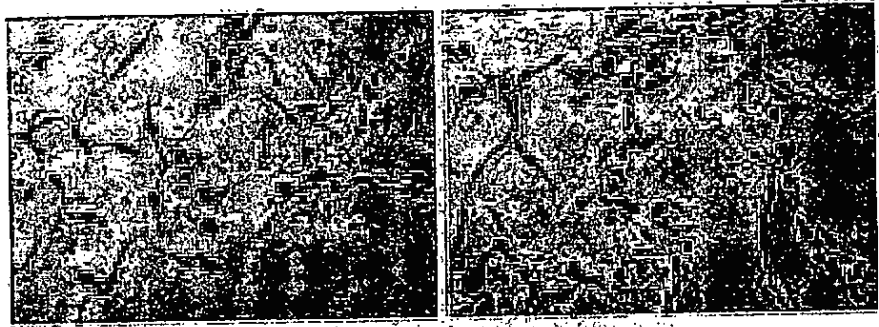


Fig. 3B

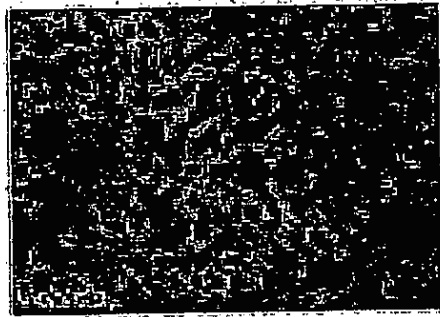


FIGURA 3

Fig. 4A



Fig. 4B

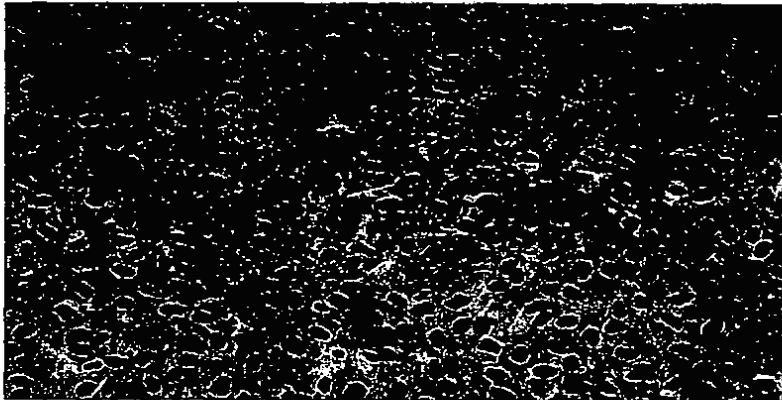


Fig. 4C

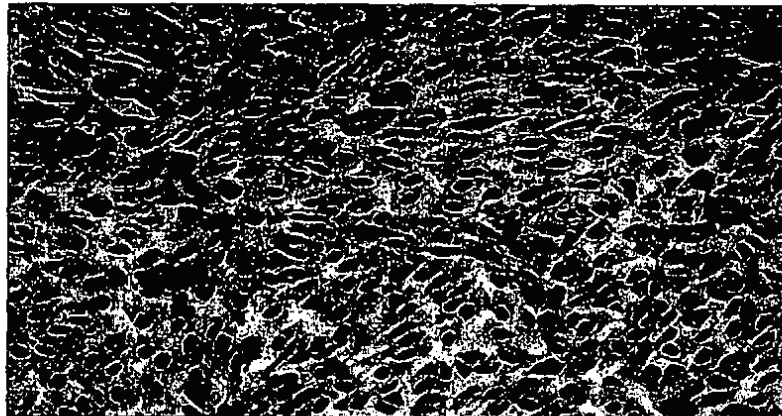


FIGURA 4

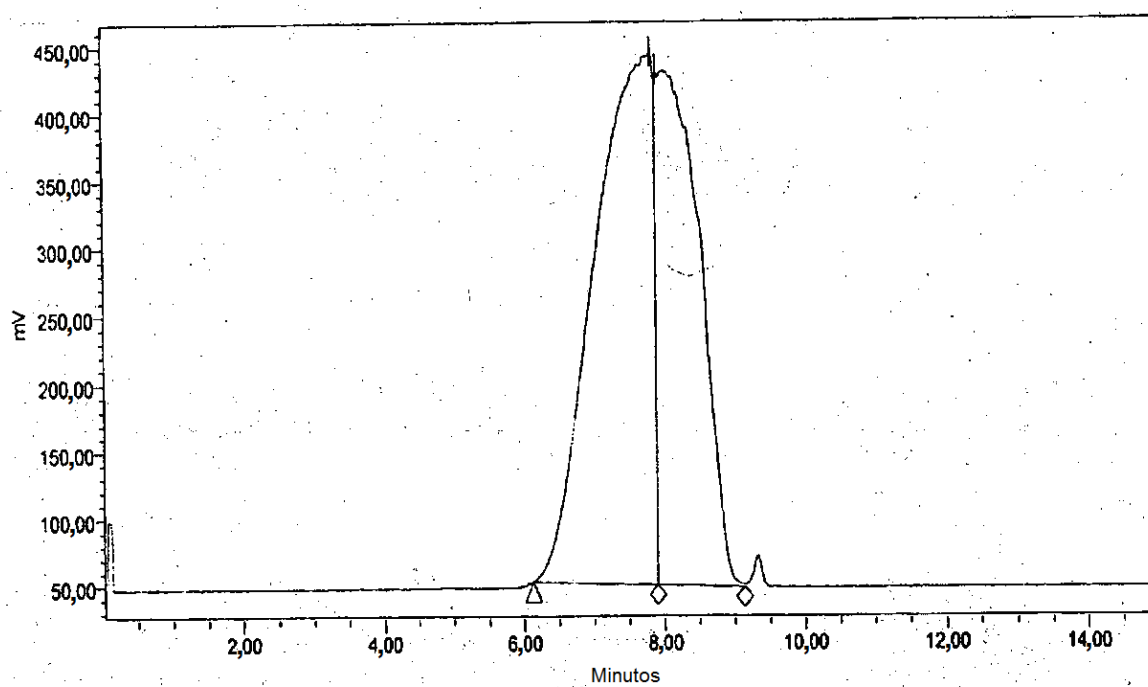


FIGURA 5

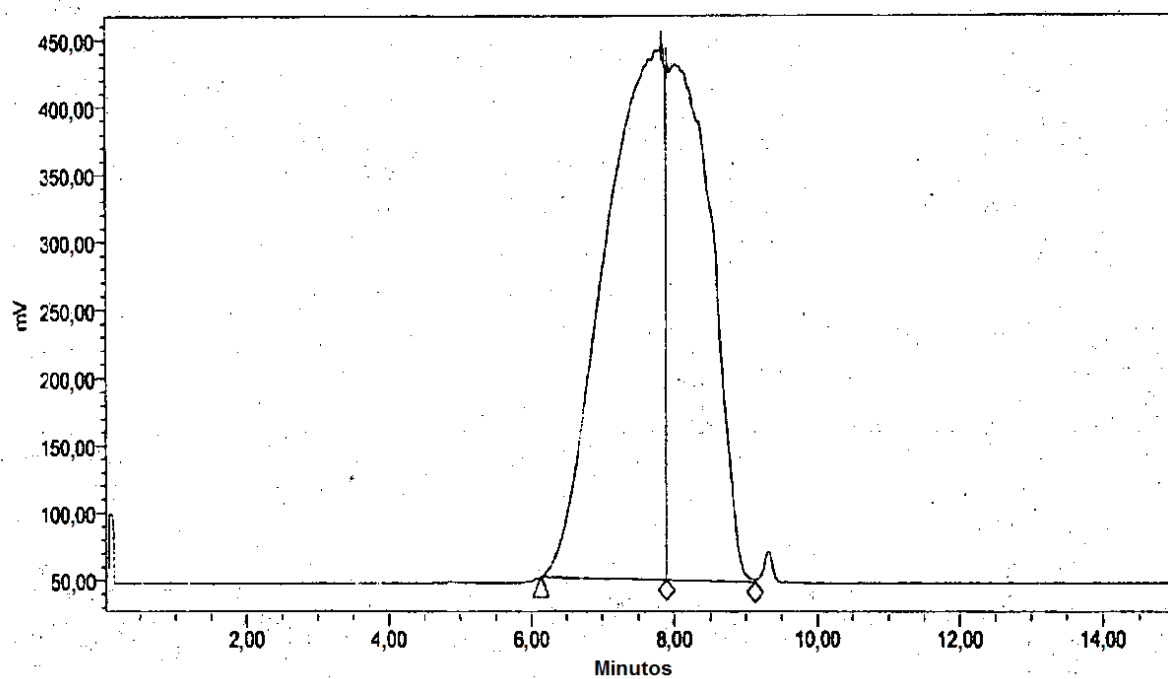


FIGURA 6