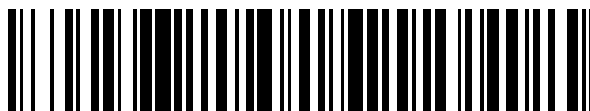


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 687 286**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/122** (2006.01)  
**A61K 31/7034** (2006.01)  
**A61K 31/365** (2006.01)  
**A61K 31/133** (2006.01)  
**A61K 36/07** (2006.01)  
**A61P 35/02** (2006.01)  
**A61K 9/00** (2006.01)  
**A61K 9/48** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.02.2014 PCT/US2014/017285**  
 87 Fecha y número de publicación internacional: **28.08.2014 WO14130619**  
 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.02.2014 E 14754927 (3)**  
 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.06.2018 EP 2958558**

54 Título: **Métodos y composiciones para tratar la leucemia**

30 Prioridad:

**20.02.2013 US 201361767211 P**

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

**24.10.2018**

73 Titular/es:

**GOLDEN BIOTECHNOLOGY CORPORATION  
 (100.0%)  
 101 Hudson Street Suite 2100  
 Jersey City NJ 07302, US**

72 Inventor/es:

**LIU, SHENG-YUNG;  
 WEN, WU-CHE y  
 CHEN, CHIH-MING**

74 Agente/Representante:

**ELZABURU, S.L.P**

ES 2 687 286 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

Métodos y composiciones para tratar la leucemia

## Antecedentes de la invención

5 La leucemia es un tipo de cáncer de la sangre o médula ósea caracterizado por un aumento anormal de glóbulos blancos inmaduros llamados "blastos". Leucemia es un término amplio que abarca un espectro de enfermedades. A su vez, forma parte del grupo aún más amplio de enfermedades que afectan la sangre, la médula ósea y el sistema linfático, que se conocen como neoplasmas hematológicos.

10 Clínica y patológicamente, la leucemia se subdivide en una variedad de grandes grupos. La primera división es entre sus formas agudas y crónicas. La leucemia aguda es una familia de enfermedades graves relacionadas con un diagnóstico original de leucemia. Las formas de leucemia aguda incluyen: leucemia mieloide aguda, leucemia aguda eritroide, leucemia linfoblástica aguda, leucemia linfoblástica aguda de linfocitos T, leucemia/linfoma de linfocitos T en adultos, leucemia/linfoma linfoblástico agudo de precursores T y crisis blástica de leucemia mielógena crónica. La leucemia crónica es un aumento de glóbulos blancos anormales. Se diferencia de la leucemia aguda, y se clasifica como mielógena o linfocítica. La leucemia crónica puede referirse a: leucemia mielógena crónica, leucemia linfocítica crónica, leucemia de tricoleucocitos. Además, las enfermedades se subdividen según el tipo de célula sanguínea afectada. Esta división divide las leucemias en leucemias linfoblásticas o linfocíticas y leucemias mieloides o mielógenas.

20 Geethangili *et al.*, Review of Pharmacological Effects of *Antrodia camphorata* and Its Bioactive Compounds, Evidence-Based Complementary And Alternative Medicine vol. 2011: 1-17 (2011), describe los efectos farmacológicos de determinados extractos crudos de *Antrodia camphorata* que presentan actividad citotóxica contra células de leucemia murina P-388. Sin embargo, Geethangili *et al.* no describen ni dan a conocer los compuestos de la presente descripción para utilizar en el tratamiento o reducción del riesgo de leucemia en un paciente. De hecho, Geethangili *et al.* describen además ácidos zhankuicos A y C aislados de los extractos de *Antrodia camphorata* y no los análogos de un compuesto de ciclohexenona descritos en la presente memoria, que presentan actividad citotóxica contra células de leucemia murina P-388.

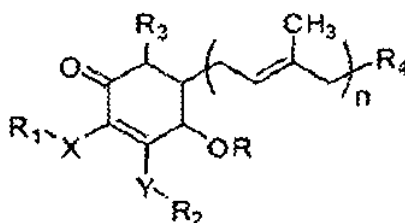
25 Tzong-Huei Lee *et al.*, A New Cytotoxic Agent From Solid-State Fermented Mycelium of *Antrodia camphorata*, *Planta Medica* 73(13): 1412-1415 (2007), describe un compuesto de ciclohexenona que presenta citotoxicidad activa contra determinados tipos de cáncer de mama, cáncer de hígado, estirpes celulares de cáncer de próstata pero no estirpes celulares de leucemia.

30 El documento EP 2 329 816 A1 describe un compuesto MMH01, aislado de los extractos de *Antrodia camphorata*, para inhibir el crecimiento de las células cancerosas de la leucemia humana (U937). Sin embargo, MMH01 no es un análogo de un compuesto de ciclohexenona de la presente descripción.

35 Hseu You-Cheng *et al.*, Induction of apoptosis by *Antrodia camphorata* in human premyelocytic leukemia HL-60 cells, *Nutrition And Cancer* 48(2): 189-197 (2004), describen que determinados caldos de cultivo fermentados de *A. camphorata* tienen capacidad para provocar apoptosis en células humanas HL-60 cultivadas de leucemia premielocítica. Sin embargo, Hseu You-Cheng *et al.* no describen ni dan a conocer el uso de un determinado compuesto de ciclohexenona para tratar o reducir el riesgo de leucemia en un paciente.

## Compendio de la invención

40 En un aspecto proporcionado en la presente memoria es una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de ciclohexenona que tiene la estructura:



en donde cada X e Y es independientemente oxígeno, NR<sub>5</sub> o azufre;

45 R es un hidrógeno o C(=O)alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>;

cada R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> es independientemente un hidrógeno, metilo opcionalmente sustituido o (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-CH<sub>3</sub>;

R4 es NR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>, OR<sub>5</sub>, OC(=O)R<sub>7</sub>, C(=O)OR<sub>5</sub>, C(=O)R<sub>5</sub>, C(=O)NR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>, halógeno, lactona de 5 o 6 eslabones, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, alqueno C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, alquino C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, arilo, glucosilo, en donde la lactona de 5 o 6 eslabones, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, alqueno C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, alquino C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, arilo y glucosilo están opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes seleccionados entre NR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>, OR<sub>5</sub>, OC(=O)R<sub>7</sub>, C(=O)OR<sub>5</sub>, C(=O)R<sub>5</sub>, C(=O)NR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, alqueno C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, alquino C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> y haloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>;

cada R<sub>5</sub> y R<sub>6</sub> es independientemente un hidrógeno o alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>;

R<sub>7</sub> es un alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, OR<sub>5</sub> o NR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>;

m = 1-12; y

n = 1-12; o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables, para uso en el tratamiento o reducción del riesgo de leucemia en un paciente.

### Breve descripción de los dibujos

Las nuevas características de la invención se exponen con particularidad en las reivindicaciones adjuntas. Se obtendrá una mejor comprensión de las características y ventajas de la presente invención haciendo referencia a la siguiente descripción detallada que expone realizaciones ilustrativas, en las que se utilizan los principios de la invención y los dibujos adjuntos de los cuales:

La FIG. 1 muestra ejemplos de resultados del compuesto 1 que estimula la fosforilación de ERK en las estirpes celulares HepG2, A549 y H838. A las estirpes celulares HepG2, A549 y H838 se les privó de suero durante la noche y se expusieron a las concentraciones indicadas de compuesto 1 durante 1 h. Todos los lisados celulares se inmunotransfirieron a continuación con un anticuerpo fosfo-ERK1/2 y se volvieron a sondar con un anticuerpo contra β-actina. Se sondó una membrana duplicada con un anticuerpo ERK1/2 completo. El nivel de expresión relativa de p-ERK1/2 contra β-actina se cuantificó por densitometría. Los experimentos se realizaron por triplicado.

Las FIG. 2A-C muestran resultados efectivos ilustrativos del tratamiento de Ras que inhibe el compuesto 1 del ejemplo en estirpes de células cancerosas. (2A) Las células A549 y H838 se calentaron con diferentes concentraciones de compuesto 1 y se cultivaron en suero (SBF al 10%) o sin suero (sin SBF) durante 24 h. (2B) H838, (2C) las células HepG2 y K562 se trataron con diferentes concentraciones de compuesto 1 y se cultivaron sin suero (sin FBS) durante 24 h. Todos los lisados celulares se inmunotransfirieron a continuación con un anticuerpo Ras. Una membrana duplicada se sondó con un anticuerpo GAPDH. El nivel de expresión relativa de Ras sin transformar a transformada se cuantificó por densitometría. Los experimentos se realizaron tres veces. Las barras representan la media ± SEM. \* P <0,05, \*\* P <0,01.

Las Figuras 3A-C presentan resultados efectivos ilustrativos del compuesto 1 que inhibe la actividad de prenilación de farnesiltransferasa *in vitro* y compite con FPP dentro de las células. (3A) Estructura química del compuesto 1 y FPP. (3B) Células H838 estimuladas con compuesto 1 o FPP como se indica durante 24 h. Todos los lisados celulares se inmunotransfirieron a continuación con un anticuerpo Ras. Una membrana duplicada se sondó con un anticuerpo GAPDH. El nivel de expresión relativa de Ras sin transformar a transformada se cuantificó por densitometría. Los experimentos se realizaron tres veces. (3C) SDS-PAGE de H-Ras-GST marcada con fluorescencia después de la prenilación con NBD-FPP mediada por FTasa. El recuadro inferior muestra el mismo gel teñido con azul de Coomassie.

Las FIG. 4A-D muestran la estructura modelo de FTasa humana en el complejo con el compuesto 1, sustrato L739 derivado de CIFM, 750 peptidomimético y FPP. (4A) Viñetas en cinta de FTasa complejada con el compuesto 1. (4B) Unión simultánea del compuesto 1 (verde) y FPP (violeta) a FTasa. (4C) Viñetas en cinta de FTasa complejada con antroquinonol. Los supuestos enlaces de hidrógeno están representados por líneas discontinuas. (4D) Viñetas en cinta de FTasa complejada con el compuesto 1 y L739,750 derivados de CIFM.

Las FIG. 5A-C muestran resultados efectivos ilustrativos de la actividad autofágica que provoca el compuesto 1 en las células H838. Las células H838 se trataron con diferentes concentraciones de compuesto 1 y se cultivaron sin suero. (5A) Las células se recogieron 0, 24 y 48 h después de los tratamientos y se sometieron a inmunotransferencia con anticuerpo Beclin-1. (5B) Todos los lisados celulares se prepararon 24 h después de los tratamientos y se sometieron a inmunotransferencia con un anticuerpo LC3B. Una membrana duplicada se sondó con un anticuerpo GAPDH. El nivel de expresión relativa de LC3B-1 a LC3B-II se cuantificó por densitometría. (5C) La distribución de LC3B endógena en autofagosomas se detectó por microscopía confocal. Los experimentos se realizaron tres veces. Las barras representan la media ± SEM. \* P <0,05, \*\* P <0,01

La FIG. 6 muestra una correlación ilustrativa entre la actividad citotóxica del compuesto 1 con los contenidos de proteína de Ras y EGFR en estirpes celulares de cáncer. Todos los lisados celulares se resolvieron por SDS-PAGE y se inmunotransfirieron con un anticuerpo Ras. Las membranas duplicadas se sondaron con un anticuerpo contra EGFR o GAPDH. Los experimentos se realizaron tres veces.

La FIG. 7 muestra un ejemplo de diagrama esquemático que ilustra el mecanismo de acción propuesto del compuesto 1. Las líneas acabadas en puntas de flecha indican activación y aumento, mientras que las que acaban en toques perpendiculares indican inhibición y disminución. Un color gris con un círculo punteado indica moléculas que no han sido validadas. Los bordes discontinuos indican interacciones que no han sido validadas. "P" indica fosforilación.

## 5 Descripción detallada de la invención

Las proteínas Ras son pequeñas GTPasas que parecen estar involucradas en múltiples vías de señalización, lo que conduce a efectos complejos y divergentes. La activación de las proteínas Ras está regulada por modificación tras la traducción, que incluye la prenilación de Ras mediada por FTasa. La prenilación es esencial para la función normal y la actividad transformante de la superfamilia de proteínas Ras. Por lo tanto, los agentes que bloquean la prenilación de Ras se han desarrollado para interferir con la proliferación y la supervivencia de las células cancerosas. El compuesto 1 a modo de ejemplo descrito en la presente memoria es un nuevo derivado de quinona farnesilado, aislado de *Antrodia camphorata*. Los estudios de acoplamiento demostraron que la cola de farnesil isoprenoide del compuesto 1 se inserta en la cavidad central de la subunidad  $\beta$  de la FTasa similar al grupo farnesilo de FPP (véase la FIG. 5). Los ensayos de inhibición de FTasa pusieron de manifiesto que el compuesto 1 inhibía FTasa en función de la dosis *in vitro* (véase el ejemplo 10). Además, la relación de Ras sin procesar a procesadas aumentó después de la administración del compuesto 1 (véase la FIG. 2). Todos estos datos respaldan que el compuesto ejemplar 1 y similares interactúan con FTasa para evitar la transformación de Ras dentro de las células cancerosas.

Los valores  $IC_{50}$  de compuesto 1 en las estirpes celulares cancerosas descritas en la presente memoria se ha demostrado que se correlacionan con la expresión de Ras y el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR). Los datos descritos en la presente memoria sugieren que el contenido de proteína de Ras y EGFR, más que la presencia de mutaciones en los genes Ras y EGFR, es el principal determinante de la citotoxicidad inducida por antroquinonol en células cancerosas.

El modelado molecular y los métodos basados en el acoplamiento se usaron para demostrar la posibilidad de interacción entre GGTasa-1 y el compuesto 1. Los estudios previos pusieron de manifiesto que el compuesto 1 activa la actividad antitumoral mediante varias moléculas de señalización incluidas AMPK, PI3K y mTOR (véase, p. ej., Kumar V. B., *et al.*, *Mutat. Res.* 10 Feb. 2011; 707 (1-2): 42-5229; Yu C-C, *et al.*, *The Journal de nutritional biochemistry* 23 (8): 900-907; Chiang P-C, *et al.*, *Biochemical Pharmacology* 79 (2):162-171). En la presente memoria, en algunas realizaciones se proporcionan ejemplos de compuestos de ciclohexenona (p. ej., compuesto 1) que inhiben la transformación de Ras por inhibición de la actividad de FTasa. Las posibles vías de señalización que contribuyen a la actividad antitumoral mediada por el compuesto 1 se resumen en la FIG. 7. La ruta Ras-PI3K-Akt-mTOR, que está relacionada con la proliferación, motilidad, metabolismo y diferenciación, se inhibe en respuesta al tratamiento del compuesto 1. Otras moléculas de señalización clave, tales como ERK1/2 y AMPK, se indujeron en respuesta al tratamiento del compuesto 1. Varios estudios han encontrado que ERK1/2 y AMPK están implicados en diferentes aspectos de muerte celular apoptótica y autofágica. Se deduce que múltiples vías de señalización se activan simultáneamente en respuesta a la estimulación del compuesto 1. Por lo tanto, en algunas realizaciones, los compuestos de ciclohexenona proporcionados en la presente memoria (p. ej., el compuesto 1) favorecen los efectos anticancerosos regulando la interferencia en una red de señalización compleja que da como resultado apoptosis y autofagia.

La inhibición de la actividad preniltransferasa suprime la prenilación de múltiples moléculas de señalización, interfiriendo con la señalización aguas abajo. Ras es una proteína de señalización fundamental en una red compleja que regula varios aspectos del crecimiento celular normal y la transformación maligna. La activación de mutaciones en Ras, especialmente K-Ras, se produce con frecuencia en cánceres humanos. Por lo tanto, elegir como objetivo a Ras es una estrategia prometedora para tratar el cáncer. Basándose en la caracterización bioquímica y el análisis de acoplamiento molecular, los compuestos de ciclohexenona proporcionados en la presente memoria (p. ej., el compuesto 1) inhiben la transformación de Ras mediante la inhibición de la enzima farnesiltransferasa, dando finalmente como resultado la muerte celular.

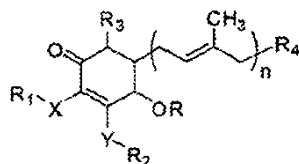
La leucemia es un cáncer maligno de la médula ósea y la sangre. Se caracteriza por el crecimiento incontrolado de las células sanguíneas. La leucemia aguda es una enfermedad que progresa rápidamente y que da como resultado la acumulación masiva de células inmaduras y sin función en la médula y la sangre. La médula a menudo ya no puede producir suficientes glóbulos rojos y blancos normales y plaquetas. La anemia, una insuficiencia de glóbulos rojos, se desarrolla en prácticamente todos los pacientes con leucemia. La falta de glóbulos blancos normales afecta la capacidad del cuerpo para combatir infecciones. Una escasez de plaquetas produce hematomas y hemorragia fácil. Por otro lado, la leucemia crónica evoluciona más lentamente y conduce a una proliferación no regulada y, por lo tanto, a una marcada sobreexpansión de un espectro de células maduras (diferenciadas).

En algunas realizaciones, se proporcionan en la presente memoria compuestos de ciclohexenona para tratar o reducir el riesgo de un paciente con leucemia administrando un compuesto de ciclohexenona descrito en la presente memoria al paciente (p. ej., una persona). Los compuestos de ciclohexenona proporcionan utilidad terapéutica a un paciente que está siendo tratado por leucemia (véanse los ejemplos 1-13). Los compuestos de ciclohexenona, en algunas realizaciones, se obtienen de extractos de productos naturales y proporcionan pocas complicaciones y/o efectos

secundarios. En algunas realizaciones, esta invención proporciona el potencial terapéutico y profiláctico de compuestos de ciclohexenona ilustrativos (p. ej., el compuesto 1) para tratar o reducir el riesgo de leucemia.

En algunas realizaciones, se proporciona una composición farmacéutica para uso en el tratamiento o reducción del riesgo de leucemia en un paciente, comprendiendo la composición una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de ciclohexenona que tiene la estructura:

5



en donde cada X e Y independientemente es oxígeno, NR<sub>5</sub> o azufre;

10 R es un hidrógeno o C(=O)alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>;

cada R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> independientemente es un hidrógeno, metilo opcionalmente sustituido o (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-CH<sub>3</sub>;

R<sub>4</sub> es NR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>, OR<sub>5</sub>, OC(=O)R<sub>7</sub>, C(=O)OR<sub>5</sub>, C(=O)R<sub>5</sub>, C(=O)NR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>, halógeno, lactona de 5 o 6 eslabones, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, arilo y glucosilo, en donde la lactona de 5 o 6 eslabones, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, arilo, y glucosilo están opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes seleccionados de NR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>, OR<sub>5</sub>, OC(=O)R<sub>7</sub>, C(=O)OR<sub>5</sub>, C(=O)R<sub>5</sub>, C(=O)NR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> y haloalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>;

15

cada uno de R<sub>5</sub> y R<sub>6</sub> es independientemente un hidrógeno o alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>;

R<sub>7</sub> es un alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, OR<sub>5</sub> o NR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>;

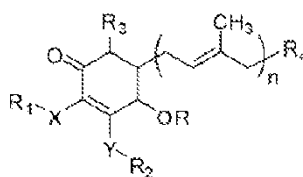
m = 1-12; y

20 n = 1-12; o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables.

En algunas realizaciones, la leucemia es una leucemia aguda tal como una leucemia mieloide aguda, leucemia eritroide aguda, leucemia linfoblástica aguda, leucemia linfoblástica aguda de linfocitos T, leucemia/linfoma de linfocitos T en adultos, leucemia/linfoma linfoblástica aguda de precursores T o crisis blástica de leucemia mielógena crónica. En algunas realizaciones, la leucemia es leucemia crónica tal como una leucemia mielógena crónica, leucemia linfocítica crónica, leucemia de tricoleucocitos. En determinadas realizaciones, la leucemia crónica es una leucemia mielógena crónica. En algunas realizaciones, el paciente es un ser humano. Véanse los ejemplos 2-13.

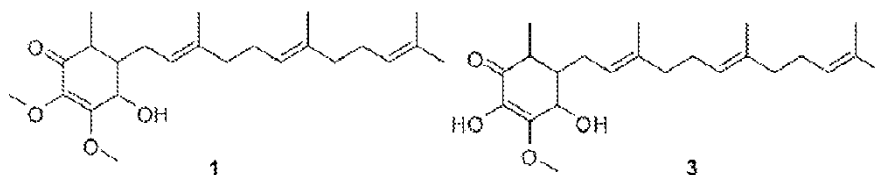
25

En algunas realizaciones, el compuesto de ciclohexenona que tiene la estructura

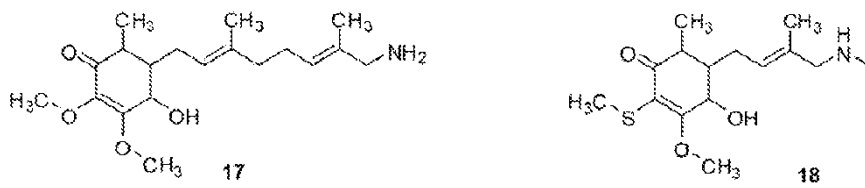
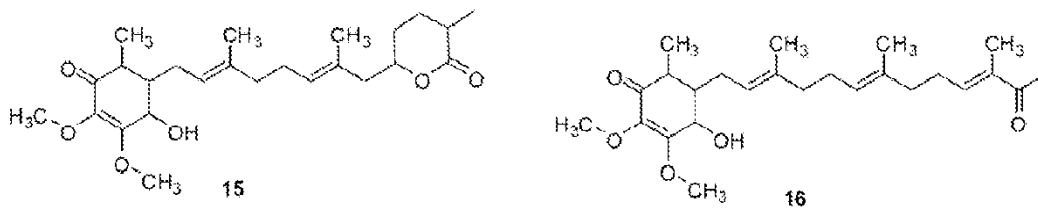
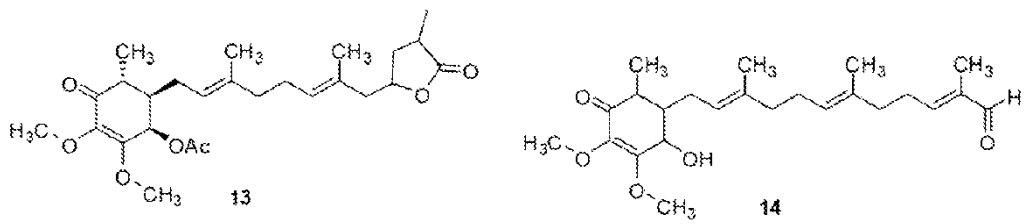
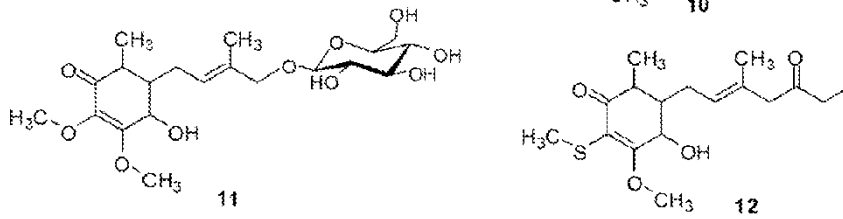
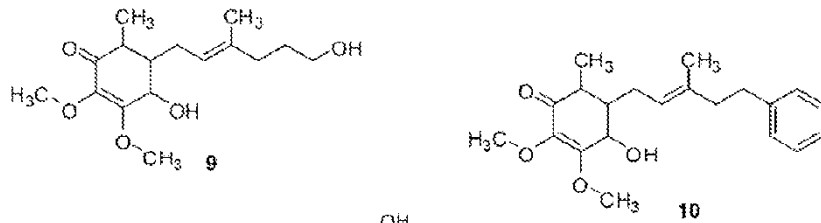
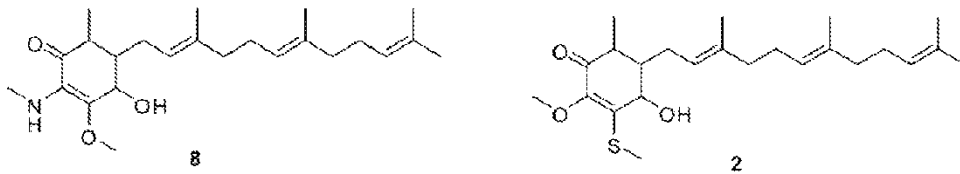
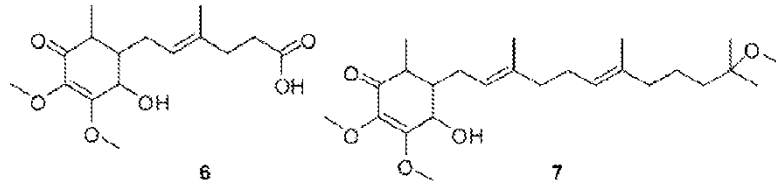
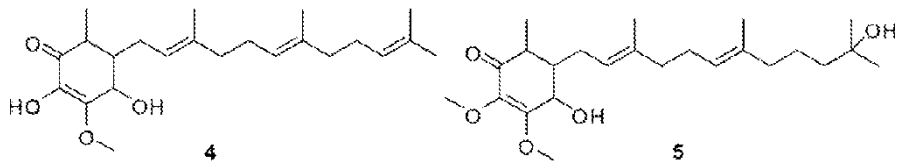


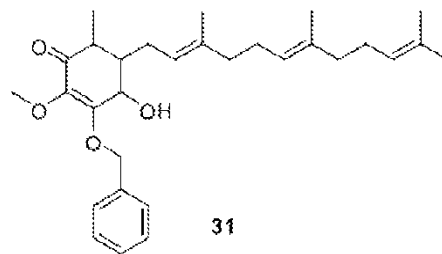
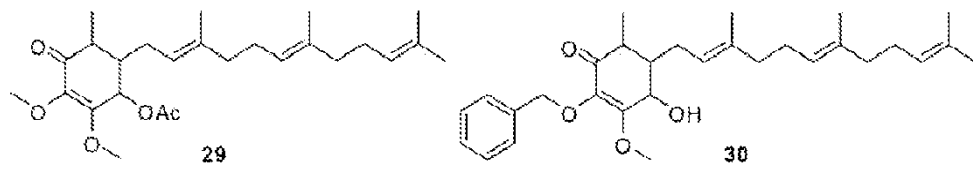
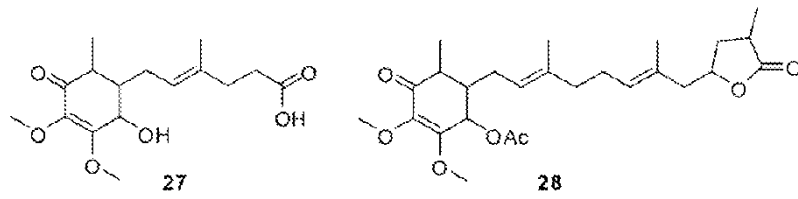
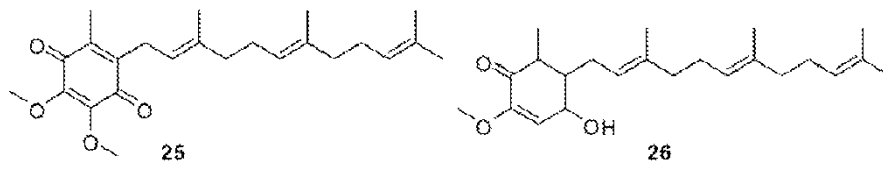
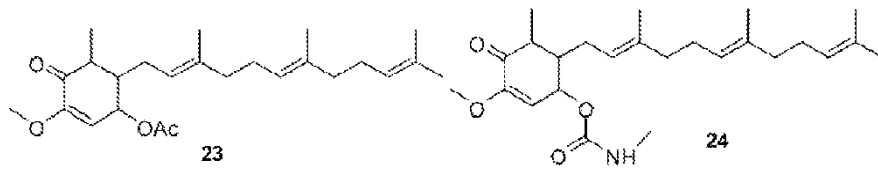
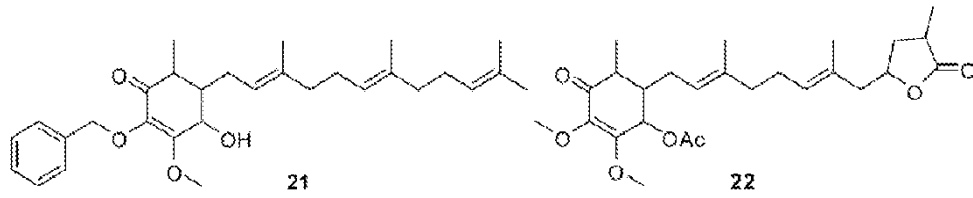
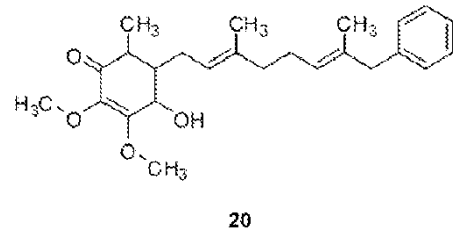
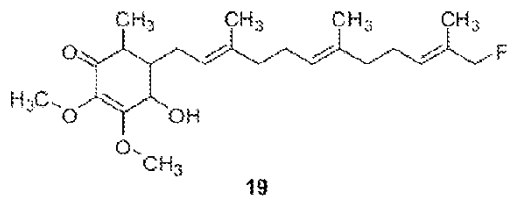
30

se prepara por síntesis o semisíntesis a partir de cualquier material de partida adecuado. En otras realizaciones, el compuesto de ciclohexenona se prepara por fermentación o similar. Por ejemplo, los compuestos 1, y 3-7 se aíslan de extractos en disolventes orgánicos. Los compuestos a modo de ejemplo no limitados se ilustran a continuación.

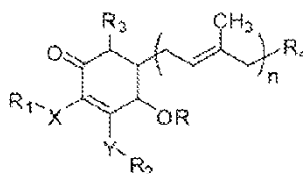


35



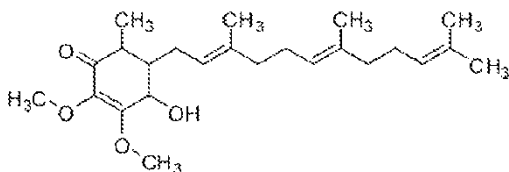


En otras realizaciones, el compuesto de ciclohexenona que tiene la estructura



5 se aísla de los extractos en disolventes orgánicos de *Antrodia camphorata*. En algunas realizaciones, el disolvente orgánico se selecciona de alcoholes (p. ej., metanol, etanol, propanol o similares), ésteres (p. ej., acetato de metilo, acetato de etilo o similares), alcanos (p. ej., pentano, hexano, heptano o similares), alcanos halogenados (p. ej., clorometano, cloroetano, cloroformo, cloruro de metileno y similares) y similares. Por ejemplo, los compuestos ejemplares 1-7 se aíslan de extractos de disolventes orgánicos. En determinadas realizaciones, el disolvente orgánico es alcohol. En algunas realizaciones, el alcohol es etanol. En algunas realizaciones, el compuesto de ciclohexenona se aísla de los extractos acuosos de *Antrodia camphorata*.

En algunas realizaciones, R es un hidrógeno, C(=O)C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>, C(=O)C<sub>2</sub>H<sub>5</sub> o C(=O)CH<sub>3</sub>. En algunas realizaciones, R<sub>1</sub> es un hidrógeno o metilo. En determinadas realizaciones, R<sub>2</sub> es un hidrógeno, metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo o hexilo. En algunas realizaciones, R<sub>3</sub> es un hidrógeno, metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo o hexilo. En algunas realizaciones, R<sub>4</sub> es halógeno, NH<sub>2</sub>, NHCH<sub>3</sub>, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, OCH<sub>3</sub>, OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, C(=O)CH<sub>3</sub>, C(=O)C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, C(=O)OCH<sub>3</sub>, C(=O)OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, C(=O)NHCH<sub>3</sub>, C(=O)NHC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, C(=O)NH<sub>2</sub>, OC(=O)CH<sub>3</sub>, OC(=O)C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, OC(=O)OCH<sub>3</sub>, OC(=O)OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, OC(=O)NHCH<sub>3</sub>, OC(=O)NHC<sub>2</sub>H<sub>5</sub> o OC(=O)NH<sub>2</sub>. En algunas realizaciones, R<sub>4</sub> es C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>OH, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>COOH, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>COOH, CH<sub>2</sub>OH, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH, CH<sub>2</sub>Ph, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>Ph, CH<sub>2</sub>CH=C(CH<sub>3</sub>)(CHO), CH<sub>2</sub>CH=C(CH<sub>3</sub>)(C(=O)CH<sub>3</sub>), lactona de 5 o 6 eslabones, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, arilo, y glucosilo, en donde lactona de 5 o 6 eslabones, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, arilo y glucosilo están opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes seleccionados de NR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>, OR<sub>5</sub>, OC(=O)R<sub>7</sub>, C(=O)OR<sub>5</sub>, C(=O)R<sub>5</sub>, C(=O)NR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> y haloalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>. En determinadas realizaciones, R<sub>4</sub> es CH<sub>2</sub>CH=C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>. En determinadas realizaciones, el compuesto es



## 25 Determinada terminología farmacéutica y médica

A menos que se indique lo contrario, los siguientes términos utilizados en esta solicitud, incluidas la memoria y las reivindicaciones, tienen las siguientes definiciones. Debe observarse que, como se emplea en la memoria y las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "una", "el" y "la" incluyen referentes plurales a menos que el contexto indique claramente lo contrario. A menos que se indique lo contrario, se emplean métodos convencionales de espectroscopia de masas, RMN, HPLC, química de proteínas, bioquímica, técnicas de ingeniería genética y farmacología. En esta solicitud, el empleo de "o" o "y" significa "y/o" a menos que se indique lo contrario. Además, el uso del término "incluyendo", así como otras formas, tales como "incluir", "incluye," e "incluido", no es restrictivo. Los encabezados de los apartados utilizados en la presente memoria son solo con fines organizativos y no se deben interpretar como restrictivos del tema descrito.

35 Un grupo "alquilo" se refiere a un grupo hidrocarburo alifático. El grupo alquilo puede ser un grupo alquilo saturado (lo que significa que no contiene ningún doble enlace carbono-carbono ni triple enlace carbono-carbono) o el grupo alquilo puede ser un grupo alquilo insaturado (lo que significa que contiene al menos un doble enlace carbono-carbono o triple enlace carbono-carbono). El resto alquilo, ya sea saturado o insaturado, puede ser ramificado o de cadena lineal.

El grupo "alquilo" puede tener de 1 a 12 átomos de carbono (siempre que aparezca en la presente memoria, un intervalo numérico tal como "1 a 12" se refiere a cada número entero en el intervalo dado; p. ej., "1 a 12 átomos de carbono" significa que el grupo alquilo puede consistir en 1 átomo de carbono, 2 átomos de carbono, 3 átomos de carbono, etc., hasta e incluyendo 12 átomos de carbono, aunque la presente definición también cubre la existencia del término "alquilo" donde no se designa ningún intervalo numérico). El grupo alquilo de los compuestos descritos en la presente memoria puede designarse "alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>" o designaciones similares. A modo de ejemplo solamente, "alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>" indica que hay uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete u ocho átomos de carbono en la cadena de alquilo. En un aspecto, el alquilo se selecciona del grupo que consiste en metilo, etilo, propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, sec-butilo, y t-butilo. Los grupos alquilo típicos incluyen, pero no están limitados en modo alguno a, metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec-butilo, butilo terciario, pentilo, neopentilo, hexilo, alilo, but-2-enilo, but-3-



enilo, ciclopropilmetilo, ciclobutilmetilo, ciclopentilmetilo, ciclohexilmetilo y similares. En un aspecto, un alquilo es un alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>.

El término "alquileno" se refiere a un radical alquilo divalente. Cualquiera de los grupos alquilo monovalentes mencionados anteriormente puede ser un alquileno por abstracción de un segundo átomo de hidrógeno del alquilo.

5 En un aspecto, un alquileno es un alquileno C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>. En otro aspecto, un alquileno es un alquileno C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>. Los grupos alquileno típicos incluyen, pero no se limitan a, -CH<sub>2</sub>-, -CH(CH<sub>3</sub>)-, -C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)-, -CH<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>- y similares.

Como se emplea en la presente memoria, el término "arilo" se refiere a un anillo aromático en donde cada uno de los átomos que forman el anillo es un átomo de carbono. Los anillos de arilo están formados por cinco, seis, siete, ocho, nueve o más de nueve átomos de carbono. Los grupos arilo están opcionalmente sustituidos. En un aspecto, un arilo es un fenilo o un naftalenilo. En un aspecto, un arilo es un fenilo. En un aspecto, un arilo es un arilo C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>. Dependiendo de la estructura, un grupo arilo puede ser un monorradiado o un dirradiado (es decir, un grupo arileno). En un aspecto, un arileno es un arileno C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>. Ejemplos de arilenos incluyen, pero no se limitan a, fenil-1,2-eno, fenil-1,3-eno, y fenil-1,4-eno.

15 El término "aromático" se refiere a un anillo plano que tiene un sistema de electrones π deslocalizado que contiene 4n+2 electrones π, donde n es un número entero. Los anillos aromáticos se pueden formar a partir de cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez o más de diez átomos. Los aromáticos están opcionalmente sustituidos. El término "aromático" incluye tanto grupos arilo carbocíclico ("arilo", p. ej., fenilo) como arilo heterocíclico (o "heteroarilo" o "heteroaromático") (p. ej., piridina). El término incluye grupos monocíclicos o policíclicos de anillos condensados (es decir, anillos que comparten pares adyacentes de átomos de carbono).

20 El término "halo" o, alternativamente, "halógeno" o "haluro" significa flúor, cloro, bromo o yodo.

El término "lactona" se refiere a un éster cíclico que puede verse como el producto de condensación de un grupo alcohol -OH y un grupo ácido carboxílico -COOH en la misma molécula. Se caracteriza por un anillo cerrado que consiste en dos o más átomos de carbono y un solo átomo de oxígeno, con un grupo cetona >>C=O en uno de los carbonos adyacentes al otro oxígeno.

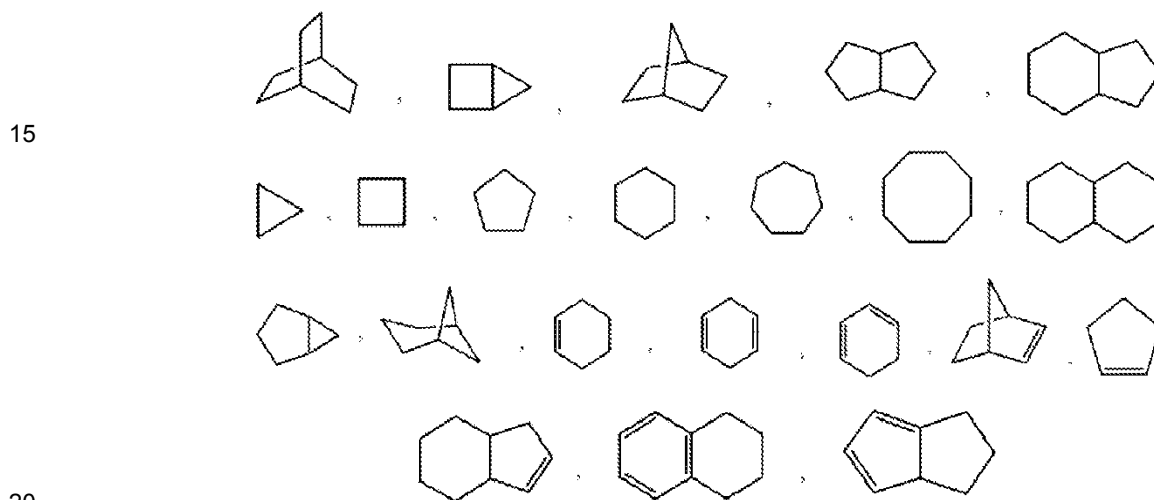
El término "heterociclo" o "heterocíclico" se refiere a anillos heteroaromáticos (también conocidos como heteroarilos) y anillos de heterocicloalquilo (también conocidos como grupos heteroalíclicos) que contienen de uno a cuatro heteroátomos en el o los anillo(s), donde cada heteroátomo en el o los anillo(s) se selecciona entre O, S y N, en donde cada grupo heterocíclico tiene de 4 a 10 átomos en su sistema de anillo, y con la condición de que cualquier anillo no contenga dos átomos O o S adyacentes. Grupos heterocíclicos no aromáticos (también conocidos como heterocicloalquilos) incluyen grupos que tienen solo 3 átomos en su sistema de anillos, pero los grupos heterocíclicos aromáticos deben tener al menos 5 átomos en su sistema de anillos. Los grupos heterocíclicos incluyen sistemas de anillos benzocondensados. Un ejemplo de un grupo heterocíclico de 3 eslabones es aziridinilo. Un ejemplo de un grupo heterocíclico de 4 eslabones es azetidino. Un ejemplo de un grupo heterocíclico de 5 eslabones es tiazolilo. Un ejemplo de un grupo heterocíclico de 6 eslabones es piridilo, y un ejemplo de un grupo heterocíclico de 10 eslabones es quinolinilo. Ejemplos de grupos heterocíclicos no aromáticos son pirrolidinilo, tetrahydrofuranilo, dihydrofuranilo, tetrahydrotienilo, oxazolidinonilo, tetrahydropiranilo, dihydropiranilo, tetrahydrotiopiranilo, piperidinilo, morfolinilo, tiomorfolinilo, tiofanilo, piperazinilo, aziridinilo, azetidino, oxetanilo, tetanilo, homopiperidinilo, oxepanilo, tiepanilo, oxazepinilo, diazepinilo, tiazepinilo, 1,2,3,6-tetrahydropiridinilo, pirrolin-2-ilo, pirrolin-3-ilo, indolinilo, 2H-piranilo, 4H-piranilo, dioxanilo, 1,3-dioxolanilo, pirazolinilo, ditianilo, ditiolanilo, dihydropiranilo, dihydrotienilo, dihydrofuranilo, pirazolidinilo, imidazolinilo, imidazolidinilo, 3-azabicyclo[3,1,0]hexanilo, 3-azabicyclo[4.1.0]heptanilo, 3H-indolilo y quinolizino. Ejemplos de grupos heterocíclicos aromáticos son piridinilo, imidazolilo, pirimidinilo, pirazolilo, triazolilo, pirazinilo, tetrazolilo, furilo, tienilo, isoxazolilo, tiazolilo, oxazolilo, isotiazolilo, pirrolilo, quinolinilo, isoquinolinilo, indolilo, bencimidazolilo, benzofuranilo, cinnolinilo, indazolilo, indolizino, ftalazinilo, piridazinilo, triazinilo, isoindolilo, pteridinilo, purinilo, oxadiazolilo, tiadiazolilo, furazanilo, benzofurazanilo, benzotiofenilo, benzotiazolilo, benzoxazolilo, quinazolinilo, quinoxalinilo, naftiridinilo y furopiridinilo. Los grupos anteriores pueden estar unidos por C o estar unidos por N cuando sea posible. Por ejemplo, un grupo derivado de pirrol puede ser pirrol-1-ilo (unido por N) o pirrol-3-ilo (unido por C). Además, un grupo derivado de imidazol puede ser imidazol-1-ilo o imidazol-3-ilo (ambos unidos por N) o imidazol-2-ilo, imidazol-4-ilo o imidazol-5-ilo (todos unidos por C). Los grupos heterocíclicos incluyen sistemas de anillos benzocondensados. Los heterociclos no aromáticos pueden estar sustituidos con uno o dos restos oxo (=O), tales como pirrolidin-2-ona.

El término "alqueno" tal como se emplea en la presente memoria, significa una cadena lineal, ramificada o cíclica (en cuyo caso, también se conocería como un "cicloalqueno") que contiene de 2 a 10 átomos de carbono y que contiene al menos un doble enlace carbono-carbono formado por la eliminación de dos hidrógenos. En algunas realizaciones, dependiendo de la estructura, un grupo alqueno es un monorradiado o un dirradiado (es decir, un grupo alqueno). En algunas realizaciones, los grupos alqueno están opcionalmente sustituidos. Ejemplos ilustrativos de alqueno incluyen, pero no están limitados a, etenilo, 2-propenilo, 2-metil-2-propenilo, 3-butenilo, 4-pentenilo, 5-hexenilo, 2-heptenilo, 2-metil-1-heptenilo y 3-ecenilo.

5 El término "alquinilo" tal como se emplea en la presente memoria , significa un hidrocarburo lineal, de cadena ramificada o cíclico (en cuyo caso también se conocerá como "cicloalquinilo") que contiene de 2 a 10 átomos de carbono y que contiene al menos un triple enlace carbono-carbono formado por la eliminación de cuatro hidrógenos. En algunas realizaciones, dependiendo de la estructura, un grupo alquinilo es una monorradicale o un dirradical (es decir, un grupo alquinileno). En algunas realizaciones, los grupos alquinilo están opcionalmente sustituidos. Ejemplos ilustrativos de alquinilo incluyen, pero no se limitan a, etinilo, propinilo, butinilo, pentinilo, hexinilo, heptinilo y similares.

El término "alcoxilo", tal como se emplea en la presente memoria, significa un grupo alquilo, como se define en la presente memoria, unido al resto molecular precursor por un átomo de oxígeno. Los ejemplos ilustrativos de alcoxi incluyen, pero no se limitan a, metoxilo, etoxilo, propoxilo, 2-propoxilo, butoxilo, terc-butoxilo, pentiloxilo y hexiloxilo.

10 El término "cicloalquilo" tal como se emplea en la presente memoria, significa un radical monocíclico o policíclico que contiene solo carbono e hidrógeno, e incluye los que están saturados, parcialmente insaturados o completamente insaturados. Los grupos cicloalquilo incluyen grupos que tienen de 3 a 10 átomos en el anillo. Los ejemplos representativos de cíclicos incluyen, pero no se limitan a, los siguientes restos:



En algunas realizaciones, dependiendo de la estructura, un grupo cicloalquilo es un monorradicale o un dirradical (p. ej., un grupo cicloalquileno).

25 Los términos "haloalquilo", "haloalquenilo", "haloalquinilo" y "haloalcoxilo" tal como se usan en la presente memoria incluyen estructuras de alquilo, alquenilo, alquinilo y alcoxilo en las que al menos un hidrógeno se reemplaza por un átomo de halógeno. En determinadas realizaciones en las que dos o más átomos de hidrógeno están reemplazados por átomos de halógeno, los átomos de halógeno son todos iguales entre sí. En otras realizaciones en las que dos o más átomos de hidrógeno están reemplazados por átomos de halógeno, los átomos de halógeno no son todos iguales entre sí. Los términos "fluoroalquilo" y "fluoroalcoxilo" incluyen grupos haloalquilo y haloalcoxilo, respectivamente, en los que el halo es flúor. En ciertas realizaciones, los haloalquilos están opcionalmente sustituidos.

30

El término "glucosilo" como se usa en el presente documento, incluye grupos glucosilo de forma D o L, en los que el grupo glucosilo está unido por cualquier grupo hidroxilo en el anillo de glucosa.

35 El término "aceptable" con respecto a una formulación, composición o ingrediente, como se usa en el presente documento, significa que no tiene un efecto perjudicial persistente sobre la salud general del sujeto que se está tratando.

*Antrodia* es un género de hongos de la familia Meripilaceae. Las especies de *Antrodia* tienen cuerpos fructíferos que generalmente se encuentran planos o extendidos en la superficie de crecimiento, con el himenio expuesto al exterior; los bordes se pueden girar para formar soportes estrechos. La mayoría de las especies se encuentran en bosques templados y boreales, y producen la podredumbre parda.

40 El término "vehículo", tal como se emplea en la presente memoria, se refiere a compuestos o agentes químicos relativamente atóxicos que facilitan la incorporación de un compuesto en células o tejidos.

45 Los términos "coadministración" o similares, tal como se emplean en la presente memoria, están pensados para abarcar la administración de los agentes terapéuticos seleccionados a un solo paciente, y está previsto que incluyan regímenes de tratamiento en los que los agentes se administran por la misma o diferente vía de administración o en el mismo o diferente momento.

El término "diluyente" se refiere a compuestos químicos que se usan para diluir el compuesto de interés antes de la administración. Los diluyentes también se pueden usar para estabilizar compuestos porque pueden proporcionar un entorno más estable. Las sales disueltas en soluciones amortiguadas (que también pueden proporcionar control o mantenimiento del pH) se utilizan como diluyentes en la técnica, incluida, una solución salina amortiguada con fosfato.

5 Los términos "cantidad eficaz" o "cantidad terapéuticamente eficaz", tal como se emplean en la presente memoria, se refieren a una cantidad suficiente de un agente o compuesto que se administra que aliviará en cierta medida uno o más de los síntomas de la enfermedad o afección que está siendo tratada. El resultado puede ser la reducción y/o el alivio de los signos, síntomas o causas de una enfermedad, o cualquier otra alteración deseada de un sistema biológico. Por ejemplo, una "cantidad eficaz" para usos terapéuticos es la cantidad de la composición que comprende un compuesto como se describe en la presente memoria requerido para proporcionar una disminución clínicamente significativa en los síntomas de la enfermedad. Una cantidad "eficaz" apropiada en cualquier caso individual puede determinarse usando técnicas, como un estudio de aumento de la dosis.

10 Los términos "potenciar" o "potenciación", tal como se emplean en la presente memoria, significan aumentar o prolongar en potencia o duración un efecto deseado. Por lo tanto, con respecto a potenciar el efecto de los agentes terapéuticos, el término "potenciación" se refiere a la capacidad de aumentar o prolongar, en potencia o duración, el efecto de otros agentes terapéuticos en un sistema. Una "cantidad potenciadora eficaz", tal como se emplea en la presente memoria, se refiere a una cantidad adecuada para potenciar el efecto de otro agente terapéutico en un sistema deseado.

15 Un "metabolito" de un compuesto descrito en la presente memoria es un derivado de ese compuesto que se forma cuando se metaboliza el compuesto. La expresión "metabolito activo" se refiere a un derivado biológicamente activo de un compuesto que se forma cuando se metaboliza el compuesto. El término "metabolizado", tal como se emplea en la presente memoria, se refiere a la suma de los procesos (incluidos, pero no limitados a, reacciones de hidrólisis y reacciones catalizadas por enzimas) mediante las cuales una sustancia concreta se cambia por un organismo. Por lo tanto, las enzimas pueden producir alteraciones estructurales específicas en un compuesto. Por ejemplo, el citocromo P450 cataliza una variedad de reacciones oxidantes y reductoras, mientras que las uridin difosfato glucuroniltransferasas catalizan la transferencia de una molécula de ácido glucurónico activada a alcoholes aromáticos, alcoholes alifáticos, ácidos carboxílicos, aminas y grupos sulfhidrido libres. Los metabolitos de los compuestos descritos en la presente memoria se identifican opcionalmente ya sea mediante la administración de compuestos a un anfitrión y análisis de muestras de tejido del anfitrión, o mediante incubación de compuestos con células hepáticas *in vitro* y análisis de los compuestos resultantes.

20 La expresión "combinación farmacéutica" tal como se emplea en la presente memoria, significa un producto que procede de la mezcla o combinación de más de un principio activo e incluye tanto combinaciones fijas como no fijas de los principios activos. El término "combinación fija" significa que los principios activos, p. ej. un compuesto (es decir, un compuesto de ciclohexenona descrito en la presente memoria) y un coagente, se administran ambos a un paciente simultáneamente en forma de una sola entidad o dosis. La expresión "combinación no fija" significa que los principios activos, p. ej. un compuesto (es decir, un compuesto de ciclohexenona descrito en la presente memoria) y un coagente, se administran a un paciente como entidades separadas ya sea de forma simultánea, conjuntamente o sucesivamente sin límites de tiempo intermedios intervinientes específicos, en donde dicha administración proporciona niveles efectivos de los dos compuestos en el cuerpo del paciente. Esto último también se aplica a la politerapia, p. ej. la administración de tres o más principios activos.

25 La expresión "composición farmacéutica" se refiere a una mezcla de un compuesto (es decir, un compuesto de ciclohexenona descrito en la presente memoria) con otros componentes químicos, tales como vehículos, estabilizadores, diluyentes, agentes dispersantes, agentes de suspensión, agentes espesantes y/o excipientes. La composición farmacéutica facilita la administración del compuesto a un organismo. En la técnica existen múltiples técnicas para administrar un compuesto incluidas entre otras, pero no imitadas a: administración intravenosa, oral, en aerosol, parenteral, oftálmica, pulmonar y tópica.

30 El término "sujeto" o "paciente" abarca mamíferos. Los ejemplos de mamíferos incluyen, pero no se limitan a, cualquier miembro de la clase mamíferos: humanos, primates no humanos tales como chimpancés, y otros simios y especies de monos; animales de granja tales como ganado, caballos, ovejas, cabras, cerdos, animales domésticos tales como conejos, perros y gatos; animales de laboratorio que incluyen roedores, tales como ratas, ratones y conejillos de indias, y similares. En una realización, el mamífero es un ser humano.

35 Los términos "tratar" o "tratamiento", tal como se emplean en la presente memoria, incluyen aliviar, reducir o mejorar al menos un síntoma de una enfermedad o afección, evitar síntomas adicionales, inhibir la enfermedad o afección, por ejemplo, detener el desarrollo de la enfermedad o afección, aliviando la enfermedad o afección, produciendo la regresión de la enfermedad o afección, aliviando una afección causada por la enfermedad o afección, o deteniendo los síntomas de la enfermedad o afección ya sea profiláctica y/o terapéuticamente.

Vías de administración y posología

Las vías de administración adecuadas incluyen, pero no se limitan a, administración oral, intravenosa, rectal, en aerosol, parenteral, oftálmica, pulmonar, transmucosa, transdérmica, vaginal, ótica, nasal y tópica. Además, solo a modo de ejemplo, la administración parenteral incluye inyecciones intramusculares, subcutáneas, intravenosas, intramedulares, así como inyecciones intratecales, intraventriculares directas, intraperitoneales, intralinfáticas e intranasales.

En determinadas realizaciones, un compuesto tal como se describe en la presente memoria se administra de una manera local en lugar de general, por ejemplo, por inyección del compuesto directamente en un órgano, a menudo en una preparación de liberación lenta o una formulación de liberación prolongada. En realizaciones específicas, las formulaciones de acción prolongada se administran por implantación (por ejemplo, por vía subcutánea o intramuscular) o por inyección intramuscular. Además, en otras realizaciones, el fármaco se administra en un sistema de suministro de fármaco dirigido, por ejemplo, en un liposoma recubierto con anticuerpo específico para el órgano. En dichas realizaciones, los liposomas se dirigen al órgano y son aceptados selectivamente por éste. En otras realizaciones aún, el compuesto tal como se describe en la presente memoria se proporciona en forma de una formulación de liberación rápida, en forma de una formulación de liberación prolongada, o en forma de una formulación de liberación intermedia. En otras realizaciones aún, el compuesto descrito en la presente memoria se administra por vía tópica.

En algunas realizaciones, el compuesto de ciclohexenona, o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables, se administra por vía parenteral o intravenosa. En otras realizaciones, el compuesto de ciclohexenona, o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables, se administra por inyección. En algunas realizaciones, el compuesto de ciclohexenona, o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables, se administra por vía oral.

En el caso en que la afección del paciente no mejore, según el criterio del médico, la administración de los compuestos puede hacerse de manera prolongada, es decir, durante un período de tiempo prolongado, incluso a lo largo de la vida del paciente para mejorar o si no controlar o limitar los síntomas de la enfermedad o afección del paciente. En el caso en el que el estado del paciente mejore, a criterio del médico, la administración de los compuestos se puede suspender de forma continua o temporal durante un cierto período de tiempo (es decir, un "descanso terapéutico").

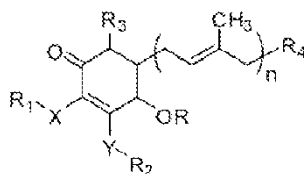
Los intervalos anteriores son meramente orientativos, ya que el número de variables con respecto a cada régimen de tratamiento es grande, y no son infrecuentes desviaciones considerables a partir de estos valores recomendados. Dicha posología puede alterarse dependiendo de un número de variables, no limitada a la actividad del compuesto usado, la enfermedad o afección a tratar, el modo de administración, los requisitos de cada paciente, la gravedad de la enfermedad o afección tratada y el criterio del médico.

La toxicidad y la eficacia terapéutica de dichos regímenes terapéuticos puede determinarse mediante procedimientos farmacéuticos convencionales en cultivos celulares o animales experimentales, incluidos entre otros, pero no limitados a, determinar la  $DL_{50}$  (la dosis letal para el 50% de la población) y la  $DE_{50}$  (la dosis terapéuticamente eficaz en 50% de la población). La relación de dosis entre los efectos tóxicos y terapéuticos es el índice terapéutico y se puede expresar como la relación entre  $DL_{50}$  y  $DE_{50}$ . Se prefieren los compuestos que presentan altos índices terapéuticos.

Los datos obtenidos a partir de ensayos de cultivos celulares y estudios en animales se pueden usar para formular un intervalo de dosificación para su uso en personas. La dosificación de dichos compuestos se encuentra preferiblemente dentro de un intervalo de concentraciones circulantes que incluyen  $DE_{50}$  con toxicidad mínima. La posología puede variar dentro de este intervalo dependiendo de la forma galénica empleada y la vía de administración utilizada.

#### Formulación farmacéutica

En algunas realizaciones, se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de ciclohexenona que tiene la estructura:



en donde cada X e Y es independientemente oxígeno,  $NR_5$  o azufre;

R es un hidrógeno o  $C(=O)$ alquilo  $C_1-C_8$ ;

cada  $R_1$ ,  $R_2$  y  $R_3$  es independientemente un hidrógeno, metilo o  $(CH_2)_m-CH_3$  opcionalmente sustituido;

$R_4$  es  $NR_5R_6$ ,  $OR_5$ ,  $OC(=O)R_7$ ,  $C(=O)OR_5$ ,  $C(=O)R_5$ ,  $C(=O)NR_5R_6$ , halógeno, lactona de 5 o 6 eslabones, alquilo  $C_1-C_8$ , alquenilo  $C_2-C_8$ , alquinilo  $C_2-C_8$ , arilo, glucosilo, en donde la lactona de 5 o 6 eslabones, alquilo  $C_1-C_8$ , alquenilo  $C_2-C_8$ , alquinilo  $C_2-C_8$ , arilo y glucosilo están opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes seleccionados

entre  $\text{NR}_5\text{R}_6$ ,  $\text{OR}_5$ ,  $\text{OC}(=\text{O})\text{R}_7$ ,  $\text{C}(=\text{O})\text{OR}_5$ ,  $\text{C}(=\text{O})\text{R}_5$ ,  $\text{C}(=\text{O})\text{NR}_5\text{R}_6$ , alquilo  $\text{C}_1\text{-C}_8$ , alqueno  $\text{C}_2\text{-C}_8$ , alquino  $\text{C}_2\text{-C}_8$ , cicloalquilo  $\text{C}_3\text{-C}_8$  y haloalquilo  $\text{C}_1\text{-C}_8$ ;

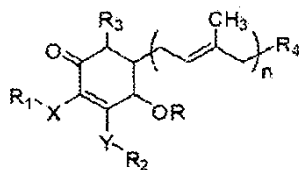
cada  $\text{R}_5$  y  $\text{R}_6$  es independientemente un hidrógeno o alquilo  $\text{C}_1\text{-C}_8$ ;

$\text{R}_7$  es un alquilo  $\text{C}_1\text{-C}_8$ ,  $\text{OR}_5$  o  $\text{NR}_5\text{R}_6$ ;

- 5  $m = 1\text{-}12$ ; y  $n = 1\text{-}12$ ; o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables; y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

En algunas realizaciones, los compuestos de ciclohexenona de las composiciones farmacéuticas tienen la estructura:

10



en donde cada X e Y es independientemente oxígeno,  $\text{NR}_5$  o azufre;

R es un hidrógeno o  $\text{C}(=\text{O})$ alquilo  $\text{C}_1\text{-C}_8$ ;

- 15 cada uno de  $\text{R}_1$ ,  $\text{R}_2$  y  $\text{R}_3$  es independientemente un hidrógeno, metilo opcionalmente sustituido o  $(\text{CH}_2)_m\text{-CH}_3$ ;

$\text{R}_4$  es  $\text{NR}_5\text{R}_6$ ,  $\text{OR}_5$ ,  $\text{OC}(=\text{O})\text{R}_7$ ,  $\text{C}(=\text{O})\text{OR}_5$ ,  $\text{C}(=\text{O})\text{R}_5$ ,  $\text{C}(=\text{O})\text{NR}_5\text{R}_6$ , halógeno, lactona de 5 o 6 eslabones, alquilo  $\text{C}_1\text{-C}_8$ , alqueno  $\text{C}_2\text{-C}_8$ , alquino  $\text{C}_2\text{-C}_8$ , arilo, glucosilo, en donde la lactona de 5 o 6 eslabones, alquilo  $\text{C}_1\text{-C}_8$ , alqueno  $\text{C}_2\text{-C}_8$ , alquino  $\text{C}_2\text{-C}_8$ , arilo y glucosilo están opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes seleccionados entre  $\text{NR}_5\text{R}_6$ ,  $\text{OR}_5$ ,  $\text{OC}(=\text{O})\text{R}_7$ ,  $\text{C}(=\text{O})\text{OR}_5$ ,  $\text{C}(=\text{O})\text{R}_5$ ,  $\text{C}(=\text{O})\text{NR}_5\text{R}_6$ , alquilo  $\text{C}_1\text{-C}_8$ , alqueno  $\text{C}_2\text{-C}_8$ , alquino  $\text{C}_2\text{-C}_8$ , cicloalquilo  $\text{C}_3\text{-C}_8$  y haloalquilo  $\text{C}_1\text{-C}_8$ ;

20

cada  $\text{R}_5$  y  $\text{R}_6$  es independientemente un hidrógeno o alquilo  $\text{C}_1\text{-C}_8$ ;

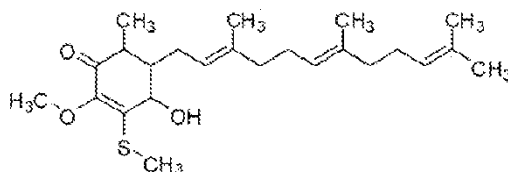
$\text{R}_7$  es un alquilo  $\text{C}_1\text{-C}_8$ ,  $\text{OR}_5$  o  $\text{NR}_5\text{R}_6$ ;

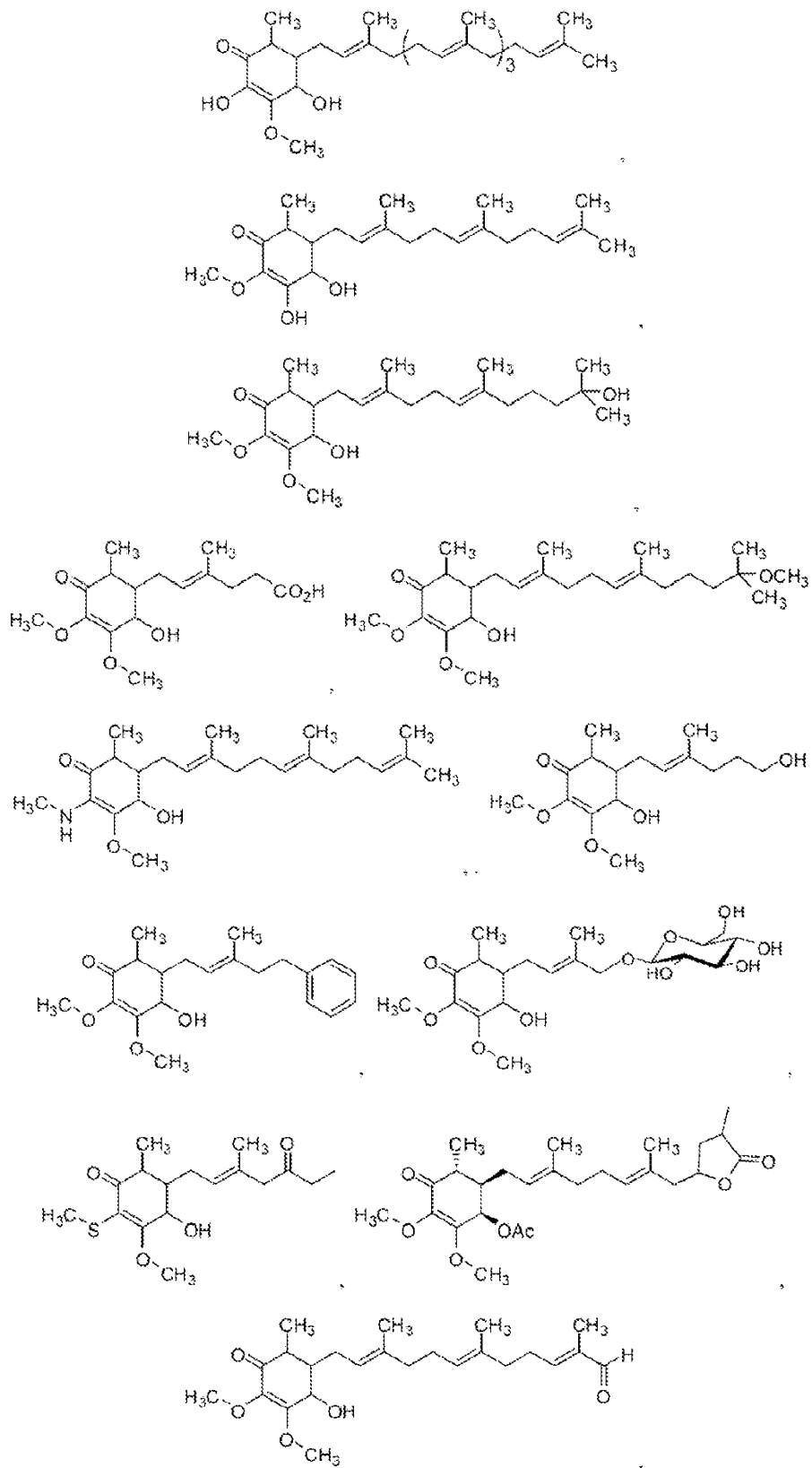
$m = 1\text{-}12$ ; y  $n = 1\text{-}12$ ; o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables.

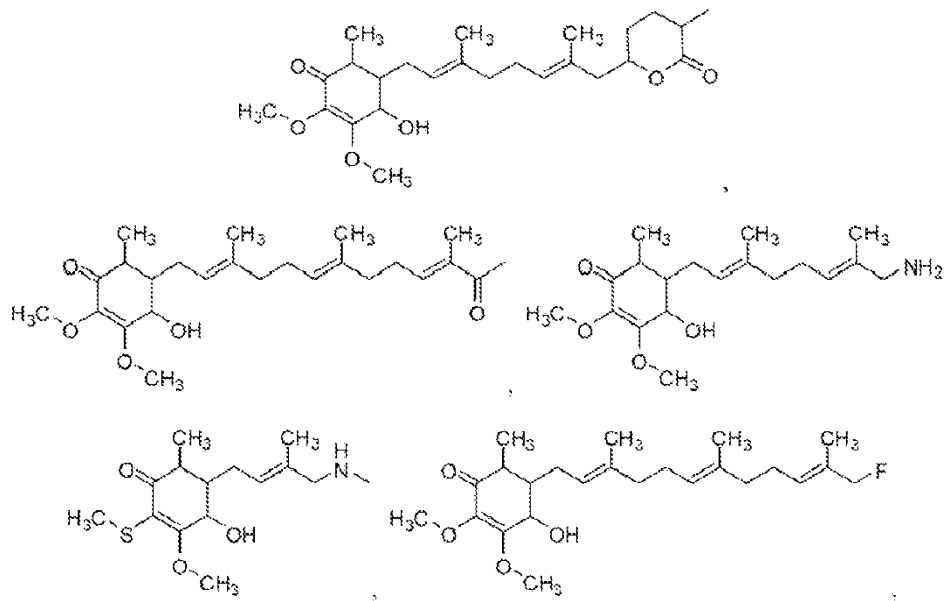
- 25 En algunas realizaciones, R es un hidrógeno,  $\text{C}(=\text{O})\text{C}_3\text{H}_7$ ,  $\text{C}(=\text{O})\text{C}_2\text{H}_5$  o  $\text{C}(=\text{O})\text{CH}_3$ . En algunas realizaciones, cada uno de  $\text{R}_1$ ,  $\text{R}_2$  y  $\text{R}_3$  independientemente es un hidrógeno, metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, hexilo, heptilo u octilo. En determinadas realizaciones,  $\text{R}_1$  es un hidrógeno o metilo. En determinadas realizaciones,  $\text{R}_2$  es un hidrógeno, metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo o hexilo. En determinadas realizaciones,  $\text{R}_3$  es un hidrógeno, metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo o hexilo. En algunas realizaciones,  $\text{R}_4$  es halógeno,  $\text{NH}_2$ ,  $\text{NHCH}_3$ ,  $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ,  $\text{OCH}_3$ ,  $\text{OC}_2\text{H}_5$ ,  $\text{C}(=\text{O})\text{CH}_3$ ,  $\text{C}(=\text{O})\text{C}_2\text{H}_5$ ,  $\text{C}(=\text{O})\text{OCH}_3$ ,  $\text{C}(=\text{O})\text{OC}_2\text{H}_5$ ,  $\text{C}(=\text{O})\text{NHCH}_3$ ,  $\text{C}(=\text{O})\text{NHC}_2\text{H}_5$ ,  $\text{C}(=\text{O})\text{NH}_2$ ,  $\text{OC}(=\text{O})\text{CH}_3$ ,  $\text{OC}(=\text{O})\text{C}_2\text{H}_5$ ,  $\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_3$ ,  $\text{OC}(=\text{O})\text{OC}_2\text{H}_5$ ,  $\text{OC}(=\text{O})\text{NHCH}_3$ ,  $\text{OC}(=\text{O})\text{NHC}_2\text{H}_5$  o  $\text{OC}(=\text{O})\text{NH}_2$ . En determinadas realizaciones,  $\text{R}_4$  es  $\text{C}_2\text{H}_5\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{OH}$ ,  $\text{C}_2\text{H}_5\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{OCH}_3$ ,  $\text{CH}_2\text{COOH}$ ,  $\text{C}_2\text{H}_5\text{COOH}$ ,  $\text{CH}_2\text{OH}$ ,  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ,  $\text{C}_2\text{H}_5\text{Ph}$ ,  $\text{CH}_2\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)(\text{CHO})$ ,  $\text{CH}_2\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)(\text{C}(=\text{O})\text{CH}_3)$ , lactona, arilo o glucosilo de 5 o 6 eslabones, en donde la lactona, arilo y glucosilo de 5 o 6 eslabones están opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes seleccionados de  $\text{NR}_5\text{R}_6$ ,  $\text{OR}_5$ ,  $\text{OC}(=\text{O})\text{R}_7$ ,  $\text{C}(=\text{O})\text{OR}_5$ ,  $\text{C}(=\text{O})\text{R}_5$ ,  $\text{C}(=\text{O})\text{NR}_5\text{R}_6$ , alquilo  $\text{C}_1\text{-C}_8$ , alqueno  $\text{C}_2\text{-C}_8$ , alquino  $\text{C}_2\text{-C}_8$ , cicloalquilo  $\text{C}_3\text{-C}_8$  y haloalquilo  $\text{C}_1\text{-C}_8$ . En determinadas realizaciones,  $\text{R}_4$  es  $\text{CH}_2\text{COOH}$ ,  $\text{C}_2\text{H}_5\text{COOH}$ ,  $\text{CH}_2\text{OH}$ ,  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ,  $\text{C}_2\text{H}_5\text{Ph}$ ,  $\text{CH}_2\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)(\text{CHO})$ ,  $\text{CH}_2\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)(\text{C}(=\text{O})\text{CH}_3)$ , lactona, arilo o glucosilo de 5 o 6 eslabones, en el que la lactona, arilo y glucosilo de 5 o 6 eslabones están opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes seleccionados entre  $\text{NR}_5\text{R}_6$ ,  $\text{OR}_5$ ,  $\text{OC}(=\text{O})\text{R}_7$ ,  $\text{C}(=\text{O})\text{OR}_5$ ,  $\text{C}(=\text{O})\text{R}_5$ ,  $\text{C}(=\text{O})\text{NR}_5\text{R}_6$ , alquilo  $\text{C}_1\text{-C}_8$ , alqueno  $\text{C}_2\text{-C}_8$ , alquino  $\text{C}_2\text{-C}_8$ , cicloalquilo  $\text{C}_3\text{-C}_8$  y haloalquilo  $\text{C}_1\text{-C}_8$ .

35

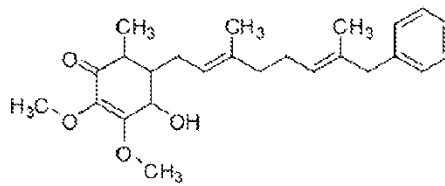
- 40 En determinadas realizaciones, el compuesto se selecciona del grupo que consiste en



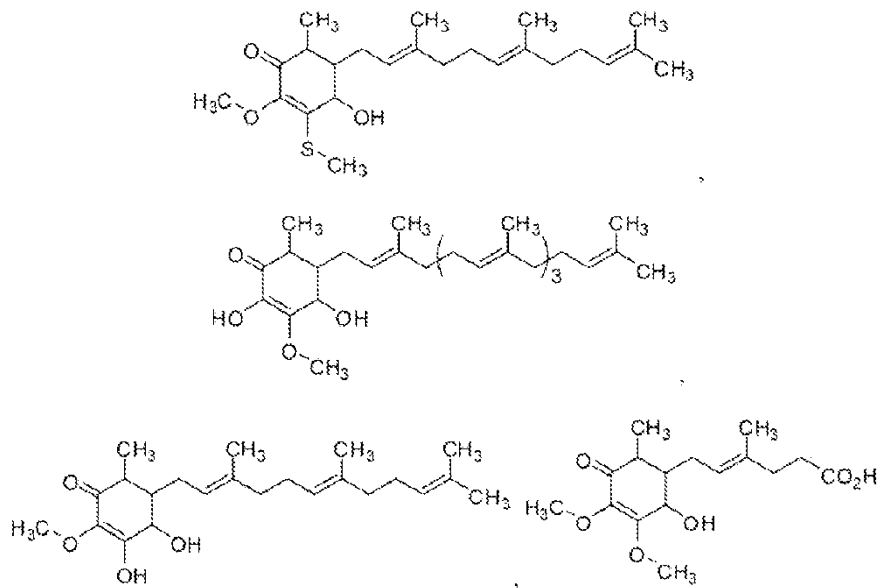


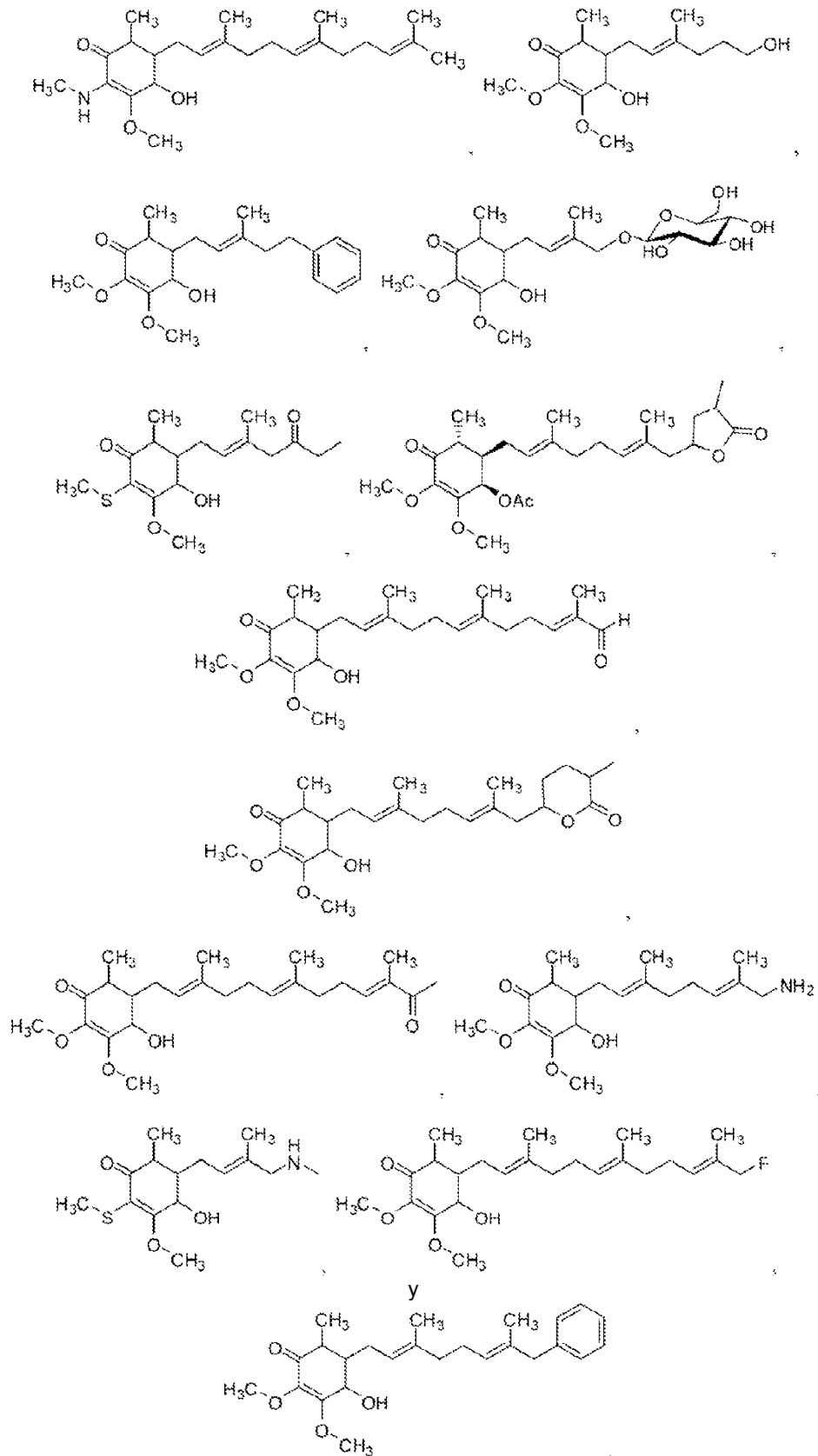


y



En determinadas realizaciones el compuesto se selecciona del grupo consistente en 15





En algunas realizaciones, los compuestos descritos en la presente memoria se formulan en composiciones farmacéuticas. En realizaciones específicas, las composiciones farmacéuticas se formulan de una manera convencional usando uno o más vehículos fisiológicamente aceptables que comprenden excipientes y sustancias



auxiliares que facilitan la preparación de los compuestos activos en preparados que pueden usarse farmacéuticamente. La formulación adecuada depende de la vía de administración elegida. Cualesquiera de las técnicas, vehículos y excipientes farmacéuticamente aceptables se usan como adecuados para formular las composiciones farmacéuticas descritas en la presente memoria: Remington: The Science and Practice of Pharmacy, decimonovena edición (Easton, Pa.: Mack Publishing Company, 1995); Hoover, John E., Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pensilvania 1975; Liberman, H.A. y Lachman, L., Eds., Pharmaceutical Dosage Forms, Marcel Decker, Nueva York, N.Y., 1980; y Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Séptima edición. (Lippincott Williams y Wilkins1999).

En la presente memoria se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto (es decir, un compuesto de ciclohexenona descrito en la presente memoria) y diluyente(s), excipiente(s) o vehículo(s) farmacéuticamente aceptable(s). En determinadas realizaciones, los compuestos descritos se administran como composiciones farmacéuticas en las que un compuesto (es decir, un compuesto de ciclohexenona descrito en la presente memoria) se mezcla con otros principios activos, como en politerapia. En la presente memoria se engloban todas las combinaciones de sustancias expuestas en la sección de politerapias a continuación y en toda esta descripción. En realizaciones específicas, las composiciones farmacéuticas incluyen uno o más compuestos (es decir, un compuesto de ciclohexenona descrito en la presente memoria).

Una composición farmacéutica, tal como se emplea en la presente memoria, se refiere a una mezcla de un compuesto (es decir, un compuesto de ciclohexenona descrito en la presente memoria) con otros componentes químicos, tales como vehículos, estabilizantes, diluyentes, dispersantes, suspensores, espesantes y/o excipientes. En determinadas realizaciones, la composición farmacéutica facilita la administración del compuesto a un organismo. En algunas realizaciones, poniendo en práctica los métodos de tratamiento o uso proporcionados en la presente memoria, las cantidades terapéuticamente eficaces de compuestos (es decir, un compuesto de ciclohexenona descrito en la presente memoria) se administran en una composición farmacéutica a un mamífero que tiene una enfermedad o afección a tratar. En realizaciones específicas, el mamífero es un ser humano. En determinadas realizaciones, las cantidades terapéuticamente eficaces varían dependiendo de la gravedad de la enfermedad, la edad y la salud relativa del sujeto, la potencia del compuesto usado y otros factores. Los compuestos descritos en la presente memoria se usan solos o en combinación con uno o más agentes terapéuticos como componentes de mezclas.

En una realización, un compuesto (es decir, un compuesto de ciclohexenona descrito en la presente memoria) se formula en una solución acuosa. En realizaciones específicas, la solución acuosa se selecciona, solo a modo de ejemplo, de un amortiguador fisiológicamente compatible, tal como la solución de Hank, la solución de Ringer o amortiguador salino fisiológico. En otras realizaciones, se formula un compuesto (es decir, un compuesto de ciclohexenona descrito en la presente memoria) para administración transmucosa. En realizaciones específicas, las formulaciones transmucosa incluyen penetrantes que son apropiados para la barrera a penetrar. En otras formas de realización en las que los compuestos descritos en la presente memoria se formulan para otras inyecciones parenterales, las formulaciones apropiadas incluyen soluciones acuosas o no acuosas. En realizaciones específicas, dichas soluciones incluyen amortiguadores y/o excipientes fisiológicamente compatibles.

En otra realización, los compuestos descritos en la presente memoria se formulan para administración oral. Los compuestos descritos en la presente memoria, incluido un compuesto (es decir, un compuesto de ciclohexenona descrito en la presente memoria), se formulan combinando los compuestos activos con, p. ej., vehículos o excipientes farmacéuticamente aceptables. En diversas realizaciones, los compuestos descritos en la presente memoria se formulan en formas galénicas orales que incluyen, solo a modo de ejemplo, comprimidos, polvos, píldoras, grageas, cápsulas, líquidos, geles, jarabes, elixires, lechadas, suspensiones y similares.

En determinadas realizaciones, las preparaciones farmacéuticas para uso oral se obtienen mezclando uno o más excipientes sólidos con uno o más de los compuestos descritos en la presente memoria, moliendo opcionalmente la mezcla resultante, y elaborando la mezcla de gránulos, después de añadir auxiliares adecuados, si se desea, para obtener comprimidos o núcleos de grageas. Los excipientes adecuados son, en particular, cargas tales como azúcares, incluidos lactosa, sacarosa, manitol o sorbitol; preparados de celulosa tales como: por ejemplo, almidón de maíz, almidón de trigo, almidón de arroz, almidón de patata, gelatina, goma de tragacanto, metilcelulosa, celulosa microcristalina, hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio; u otros tales como: polivinilpirrolidona (PVP o povidona) o fosfato de calcio. En realizaciones específicas, se añaden opcionalmente agentes disgregantes. Los agentes disgregantes incluyen, solo a modo de ejemplo, croscarmelosa de sodio reticulada, polivinilpirrolidona, agar-agar o ácido alginico o una de sus sales tal como alginato de sodio.

En una realización, las formas galénicas, tales como núcleos de grageas y comprimidos, se proporcionan con uno o más revestimientos adecuados. En realizaciones específicas, se usan soluciones concentradas de azúcar para recubrir la forma galénica. Las soluciones de azúcar, opcionalmente contienen componentes adicionales, tales como solo a modo de ejemplo, goma arábica, talco, polivinilpirrolidona, gel de carbopol, polietilenglicol y/o dióxido de titanio, soluciones de laca, disolventes orgánicos adecuados o mezclas de disolventes. También se añaden opcionalmente colorantes y/o pigmentos a los recubrimientos para su identificación. Además, se utilizan opcionalmente colorantes y/o pigmentos para caracterizar diferentes combinaciones de dosis de compuestos activos.

5 En determinadas realizaciones, las cantidades terapéuticamente eficaces de al menos uno de los compuestos descritos en la presente memoria se formulan en otras formas galénicas orales. Las formas galénicas orales incluyen cápsulas duras hechas de gelatina, así como cápsulas blandas selladas hechas de gelatina y un plastificante, como glicerol o sorbitol. En realizaciones específicas, las cápsulas duras contienen los principios activos mezclados con uno o más rellenos. Los rellenos incluyen, solo a modo de ejemplo, lactosa, aglutinantes tales como almidones y/o lubricantes tales como talco o estearato de magnesio y, opcionalmente, estabilizantes. En otras realizaciones, las cápsulas blandas contienen uno o más compuestos activos que se disuelven o se ponen en suspensión en un líquido adecuado. Los líquidos adecuados incluyen, solo a modo de ejemplo, uno o más aceites grasos, parafina líquida o polietilenglicol líquido. Además, se agregan opcionalmente estabilizantes.

10 En otras realizaciones, cantidades terapéuticamente eficaces de al menos uno de los compuestos descritos en la presente memoria se formulan para administración bucal o sublingual. Las formulaciones adecuadas para administración bucal o sublingual incluyen, solo a modo de ejemplo, comprimidos, pastillas o geles. En otras formas de realización más, los compuestos descritos en la presente memoria se formulan para inyección parenteral, incluidas formulaciones adecuadas para inyección intravenosa rápida o infusión continua. En realizaciones específicas, las formulaciones inyectables se presentan en forma galénica unitaria (p. ej., en ampollas) o en recipientes multidosis. Se añaden opcionalmente conservantes a las formulaciones de inyección. En aún otras realizaciones, las composiciones farmacéuticas de un compuesto (es decir, un compuesto de ciclohexenona descrito en la presente memoria) se formulan en una forma adecuada para inyección parenteral como suspensiones, soluciones o emulsiones estériles en vehículos aceitosos o acuosos. Las formulaciones para inyección parenteral contienen opcionalmente agentes formuladores tales como agentes de suspensión, estabilizantes y/o dispersantes. En realizaciones específicas, las formulaciones farmacéuticas para administración parenteral incluyen soluciones acuosas de los compuestos activos en forma soluble en agua. En realizaciones adicionales, las suspensiones de los compuestos activos se preparan como suspensiones aceitosas inyectables apropiadas. Los disolventes o vehículos lipófilos adecuados para usar en las composiciones farmacéuticas descritas en la presente memoria incluyen, a modo de ejemplo solamente, aceites grasos tales como aceite de sésamo o ésteres de ácidos grasos sintéticos, tales como oleato de etilo o triglicéridos, o liposomas. En determinadas realizaciones específicas, las suspensiones acuosas inyectables contienen sustancias que aumentan la viscosidad de la suspensión, tales como carboximetilcelulosa sódica, sorbitol o dextrano. Opcionalmente, la suspensión contiene estabilizantes o agentes adecuados que aumentan la solubilidad de los compuestos para permitir la preparación de soluciones muy concentradas. Alternativamente, en otras realizaciones, el principio activo está en forma de polvo para su preparación con un vehículo adecuado, p. ej., agua estéril sin pirogenos, antes del uso.

35 En un aspecto, los compuestos (es decir, los compuestos de ciclohexenona descritos en la presente memoria) se preparan como soluciones para inyección parenteral como se describe en la presente memoria o se sabe en la técnica y se administran con un inyector automático. Son conocidos inyectores automáticos, tales como los que se describen en las patentes de EE.UU. n° 4.031.893, n° 5.358.489, n° 5.540.664, n° 5.665.071, n° 5.695.472 y WO/2005/087297. En general, todos los inyectores automáticos contienen un volumen de solución que incluye un compuesto (es decir, un compuesto de ciclohexenona descrito en la presente memoria) para ser inyectado. En general, los inyectores automáticos incluyen un depósito para contener la solución, que está en comunicación fluida con una aguja para administrar el fármaco, así como un mecanismo para desplegar automáticamente la aguja, insertar la aguja en el paciente y administrar la dosis al paciente. A modo de ejemplo los inyectores proporcionan aproximadamente 0,3 ml, 0,6 ml, 1,0 ml u otro volumen de solución adecuado a aproximadamente una concentración de 0,5 mg a 50 mg de un compuesto (es decir, un compuesto de ciclohexenona descrito en la presente memoria) por 1 ml de solución. Cada inyector es capaz de administrar solo una dosis del compuesto.

45 En otras realizaciones más, los compuestos (es decir, los compuestos de ciclohexenona descritos en la presente memoria) se administran por vía tópica. Los compuestos descritos en la presente memoria se formulan en una variedad de composiciones administrables por vía tópica, tales como soluciones, suspensiones, lociones, geles, pastas, barras medicinales, bálsamos, cremas o pomadas. Dichas composiciones farmacéuticas contienen opcionalmente disolventes, estabilizantes, agentes tonificantes, amortiguadores y conservantes.

50 En otras formas de realización más, los compuestos (es decir, los compuestos de ciclohexenona descritos en la presente memoria) se formulan para la administración transdérmica. En realizaciones específicas, las formulaciones transdérmicas emplean dispositivos de administración transdérmica y parches de administración transdérmica y pueden ser emulsiones lipófilas o soluciones acuosas amortiguadas, disueltas y/o dispersadas en un polímero o un adhesivo. En diversas realizaciones, dichos parches se construyen para la administración continua, pulsátil o bajo demanda de agentes farmacéuticos. En realizaciones adicionales, la administración transdérmica de un compuesto (es decir, un compuesto de ciclohexenona descrito en la presente memoria) se realiza por medio de parches iontoforéticos y similares. En determinadas realizaciones, los parches transdérmicos proporcionan la administración controlada de un compuesto (es decir, un compuesto de ciclohexenona descrito en la presente memoria). En realizaciones específicas, la velocidad de absorción se ralentiza usando membranas controladoras de la velocidad o atrapando el compuesto dentro de una matriz o gel de polímero. En realizaciones alternativas, para aumentar la absorción se usan potenciadores de absorción. Los potenciadores de absorción o portadores incluyen disolventes absorbibles farmacéuticamente aceptables que ayudan al paso a través de la piel. Por ejemplo, en una realización, los dispositivos transdérmicos están en forma de un vendaje que comprende un miembro de soporte, un depósito que

contiene el compuesto opcionalmente con vehículos, opcionalmente una barrera de control de velocidad para administrar el compuesto a la piel del anfitrión a una velocidad controlada y predeterminada durante un período de tiempo prolongado, y significa asegurar el dispositivo a la piel.

- 5 Las formulaciones transdérmicas descritas en la presente memoria pueden administrarse usando una variedad de dispositivos que se han descrito en la técnica. Por ejemplo, dichos dispositivos incluyen, pero no se limitan a, las patentes de EE.UU. n° 3.598.122, n° 3.598.123, n° 3.710.795, n° 3.731.683, n° 3.742.951, n° 3.814.097, n° 3.921.636, n° 3.972.995, n° 3.993.072, n° 3.993.073, n° 3.996.934, n° 4.031.894, n° 4.060.084, n° 4.069.307, n° 4.077.407, n° 4.201.211, n° 4.230.105, n° 4.292.299, n° 4.292.303, n° 5.336.168, n° 5.665.378, n° 5.837.280, n° 5.869.090, n° 6.923.983, n° 6.929.801 y n° 6.946.144.
- 10 Las formas galénicas transdérmicas descritas en la presente memoria pueden incorporar determinados excipientes farmacéuticamente aceptables que son convencionales en la técnica. En una realización, las formulaciones transdérmicas descritas en la presente memoria incluyen al menos tres componentes: (1) una formulación de un compuesto (es decir, un compuesto de ciclohexenona descrito en la presente memoria); (2) un potenciador de la penetración; y (3) un adyuvante acuoso. Además, las formulaciones transdérmicas pueden incluir componentes
- 15 adicionales tales como, pero no limitados a, agentes gelificantes, cremas y bases de pomadas, y similares. En algunas realizaciones, las formulaciones transdérmicas incluyen además un material de refuerzo tejido o no tejido para mejorar la absorción y evitar la eliminación de la formulación transdérmica de la piel. En otras realizaciones, las formulaciones transdérmicas descritas en la presente memoria mantienen un estado saturado o sobresaturado para promover la difusión en la piel.
- 20 En otras realizaciones, los compuestos (es decir, los compuestos de ciclohexenona descritos en la presente memoria) se formulan para administración por inhalación. Diversas formas adecuadas para administración por inhalación incluyen, pero no se limitan a, aerosoles, nieblas o polvos. Las composiciones farmacéuticas de un compuesto (es decir, un compuesto de ciclohexenona descrito en la presente memoria) se administran convenientemente en forma de una presentación para pulverización en aerosol en envases presurizados o un nebulizador, con el uso de un gas
- 25 propulsor adecuado (p. ej., diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono u otro gas adecuado). En realizaciones específicas, la dosis individual de un aerosol presurizado se determina proporcionando una válvula para administrar una cantidad medida. En determinadas realizaciones, se formulan cápsulas y cartuchos, tales como, a modo de ejemplo solamente, de gelatinas para uso en un inhalador o insuflador que contienen una mezcla en polvo del compuesto y una base en polvo adecuada tal como lactosa o almidón.
- 30 Las formulaciones intranasales son conocidas en la técnica y se describen, por ejemplo, en las patentes de EE.UU. n° 4.476.116, n° 5.116.817 y n° 6.391.452. Las formulaciones, que incluyen un compuesto (es decir, un compuesto de ciclohexenona descrito en la presente memoria), que se preparan según estas y otras técnicas bien conocidas en la técnica, se preparan como soluciones en solución salina, empleando alcohol bencílico u otros conservantes adecuados, fluorocarbonos y/u otros agentes disolventes o dispersantes conocidos en la técnica. Véase, por ejemplo,
- 35 Ansel, H.C. *et al.*, *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, sexta ed. (1995). Preferiblemente, estas composiciones y formulaciones se preparan con ingredientes farmacéuticamente aceptables atóxicos adecuados. Estos ingredientes se encuentran en fuentes tales como REMINGTON: THE SCIENCE AND PRACTICE OF PHARMACY, 21ª edición, 2005, una referencia habitual en este campo. La elección de portadores adecuados depende en gran medida de la naturaleza exacta de la forma galénica nasal deseada, p. ej., soluciones, suspensiones, pomadas
- 40 o geles. Las formas galénicas nasales generalmente contienen grandes cantidades de agua además del principio activo. También pueden estar presentes cantidades menores de otros ingredientes tales como ajustadores de pH, agentes emulsionantes o dispersantes, conservantes, tensioactivos, agentes gelificantes o amortiguadores y otros agentes estabilizantes y disolventes. Preferiblemente, la forma galénica nasal debe ser isotónica con las secreciones nasales.
- 45 Para la administración por inhalación, los compuestos descritos en la presente memoria pueden estar en forma de aerosol, neblina o polvo. Las composiciones farmacéuticas descritas en la presente memoria se administran convenientemente en forma de una presentación de pulverización en aerosol en envases presurizados o un nebulizador, con el uso de un gas propulsor adecuado, p. ej., diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono u otro gas adecuado. En el caso de un aerosol presurizado, la dosis
- 50 individual puede determinarse proporcionando una válvula para suministrar una cantidad medida. Pueden formularse cápsulas y cartuchos, tales como, a modo de ejemplo solamente, de gelatina para su uso en un inhalador o insuflador que contienen una mezcla en polvo del compuesto descrito en la presente memoria y una base en polvo adecuada tal como lactosa o almidón.
- 55 En otras realizaciones aún, los compuestos (es decir, los compuestos de ciclohexenona descritos en la presente memoria) se formulan en composiciones rectales tales como enemas, geles rectales, espumas rectales, aerosoles rectales, supositorios, supositorios de gelatina o enemas de retención, que contienen bases de supositorios convencionales tales como manteca de cacao u otros glicéridos, así como polímeros sintéticos tales como polivinilpirrolidona, PEG, y similares. En las formas de supositorio de las composiciones se funde en primer lugar, una cera de bajo punto de fusión tal como, aunque no limitada a, una mezcla de glicéridos de ácido graso, opcionalmente
- 60 en combinación con manteca de cacao.

- En determinadas realizaciones, las composiciones farmacéuticas se formulan de cualquier manera convencional usando uno o más vehículos fisiológicamente aceptables que comprenden excipientes y sustancias auxiliares que facilitan la elaboración de los compuestos activos en preparados que pueden usarse farmacéuticamente. La formulación adecuada depende de la vía de administración elegida. Cualquier técnica, vehículo y excipiente farmacéuticamente aceptable se usa opcionalmente como adecuado y como se entiende en la técnica. Las composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto (es decir, un compuesto de ciclohexenona descrito en la presente memoria) pueden fabricarse de manera convencional, tales como, a modo de ejemplo solamente, por medio de procesos convencionales de mezcla, disolución, granulación, fabricación de grageas, levigación, emulsión, encapsulación, atrapamiento o compresión.
- Las composiciones farmacéuticas incluyen al menos un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable y al menos un compuesto (es decir, compuestos de ciclohexenona descritos en la presente memoria) descrito en la presente memoria como un principio activo. El principio activo está en forma de ácido libre o de base libre, o en forma de sal farmacéuticamente aceptable. Además, los métodos y las composiciones farmacéuticas descritas en la presente memoria incluyen el uso de formas cristalinas (también conocidas como polimorfos), así como metabolitos activos de estos compuestos que tienen el mismo tipo de actividad. Todos los tautómeros de los compuestos descritos en la presente memoria están incluidos dentro del alcance de los compuestos presentados en la presente memoria. Además, los compuestos descritos en la presente memoria abarcan formas no solvatadas así como las solvatadas con disolventes farmacéuticamente aceptables tales como agua, etanol y similares. Las formas solvatadas de los compuestos presentados en la presente memoria también se consideran que han sido descritas en la presente memoria. Además, las composiciones farmacéuticas incluyen opcionalmente otros agentes medicinales o farmacéuticos, vehículos, adyuvantes, tales como agentes conservantes, estabilizantes, humectantes o emulsionantes, activadores de soluciones, sales para regular la presión osmótica, amortiguadores u otras sustancias terapéuticamente valiosas.
- Los métodos para la preparación de composiciones que comprenden los compuestos descritos en la presente memoria incluyen la formulación de los compuestos con uno o más excipientes o vehículos inertes, farmacéuticamente aceptables, para formar un sólido, semisólido o líquido. Las composiciones sólidas incluyen, pero no se limitan a, polvos, comprimidos, gránulos dispersables, cápsulas, sellos y supositorios. Las composiciones líquidas incluyen soluciones en las que se disuelve un compuesto, emulsiones que comprenden un compuesto, o una solución que contiene liposomas, micelas o nanopartículas que comprenden un compuesto como se describe en la presente memoria. Las composiciones semisólidas incluyen, pero no se limitan a, geles, suspensiones y cremas. La forma de las composiciones farmacéuticas descritas en la presente memoria incluye soluciones o suspensiones líquidas, formas sólidas adecuadas para solución o suspensión en un líquido antes de su uso, o como emulsiones. Estas composiciones también contienen opcionalmente cantidades menores de sustancias auxiliares atóxicas, tales como agentes humectantes o emulsionantes, agentes amortiguadores del pH y demás.
- En algunas realizaciones, la composición farmacéutica que comprende al menos el compuesto (es decir, compuestos de ciclohexenona descritos en la presente memoria) toma forma ilustrativamente de un líquido en el que los agentes están presentes en solución, en suspensión o en ambas. Normalmente, cuando la composición se administra en forma de solución o suspensión, una primera parte del agente está presente en la solución y una segunda parte del agente está presente en forma de partículas, en suspensión en una matriz líquida. En algunas realizaciones, una composición líquida incluye una formulación de gel. En otras realizaciones, la composición líquida es acuosa.
- En determinadas realizaciones, las suspensiones acuosas farmacéuticas incluyen uno o más polímeros como agentes de suspensión. Los polímeros incluyen polímeros solubles en agua tales como polímeros celulósicos, p. ej., hidroxipropil metilcelulosa, y polímeros insolubles en agua tales como polímeros reticulados que contienen carboxilo. Determinadas composiciones farmacéuticas descritas en la presente memoria incluyen un polímero mucoadhesivo, seleccionado de, por ejemplo, carboximetilcelulosa, carbómero (polímero de ácido acrílico), poli(metacrilato de metilo), poli(acrilamida), policarbofilo, copolímero de ácido acrílico/acrilato de butilo, alginato de sodio y dextrano.
- Las composiciones farmacéuticas también incluyen opcionalmente agentes disolventes para ayudar en la solubilidad de un compuesto (es decir, compuestos de ciclohexenona descritos en la presente memoria). La expresión "agente disolvente" generalmente incluye agentes que dan como resultado la formación de una solución micelar o una solución verdadera del agente. Determinados tensioactivos no iónicos aceptables, por ejemplo polisorbato 80, son útiles como agentes disolventes, como pueden ser glicoles oftálmicamente aceptables, poliglicoles, p. ej., polietilenglicol 400 y éteres de glicol.
- Además, las composiciones farmacéuticas incluyen opcionalmente uno o más agentes de ajuste del pH o agentes amortiguadores, que incluyen ácidos tales como ácido acético, bórico, cítrico, láctico, fosfórico y clorhídrico; bases tales como hidróxido de sodio, fosfato de sodio, borato de sodio, citrato de sodio, acetato de sodio, lactato de sodio y tris-hidroximetilaminometano; y amortiguadores tales como citrato/dextrano, bicarbonato de sodio y cloruro de amonio. Dichos ácidos, bases y amortiguadores se incluyen en una cantidad requerida para mantener el pH de la composición en un intervalo aceptable.
- Además, las composiciones farmacéuticas incluyen opcionalmente una o más sales en una cantidad requerida para llevar la osmolalidad de la composición a un intervalo aceptable. Dichas sales incluyen las que tienen cationes de

sodio, potasio o amonio y aniones cloruro, citrato, ascorbato, borato, fosfato, bicarbonato, sulfato, tiosulfato o bisulfito; las sales adecuadas incluyen cloruro de sodio, cloruro de potasio, tiosulfato de sodio, bisulfito de sodio y sulfato de amonio.

5 Otras composiciones farmacéuticas incluyen opcionalmente uno o más conservantes para inhibir la actividad microbiana. Los conservantes adecuados incluyen sustancias que contienen mercurio tales como merfen y tiomersal; dióxido de cloro estabilizado; y compuestos de amonio cuaternario tales como cloruro de benzalconio, bromuro de cetiltrimetilamonio y cloruro de cetilpiridinio.

10 Todavía otras composiciones farmacéuticas incluyen uno o más tensioactivos para mejorar la estabilidad física o para otros fines. Los tensioactivos no iónicos adecuados incluyen glicéridos de ácidos grasos de polioxietileno y aceites vegetales, p. ej., aceite de ricino hidrogenado de polioxietileno (60); y alquiléteres de polioxietileno y alquilfenil éteres, p. ej., octoxinol 10, octoxinol 40.

Todavía otras composiciones farmacéuticas pueden incluir uno o más antioxidantes para mejorar la estabilidad química cuando se requiera. Los antioxidantes adecuados incluyen, solo a modo de ejemplo, ácido ascórbico y metabisulfito sódico.

15 En determinadas realizaciones, las composiciones farmacéuticas en suspensión acuosa se envasan en recipientes de dosis única que no se pueden volver a cerrar. Alternativamente, se usan recipientes de dosis múltiple que se pueden volver a cerrar, en cuyo caso es habitual incluir un conservante en la composición.

20 En realizaciones alternativas, se emplean otros sistemas de administración para compuestos farmacéuticos hidrófobos. Los liposomas y las emulsiones son ejemplos de vehículos o portadores para administración en la presente memoria. En determinadas realizaciones, también se emplean disolventes orgánicos tales como *N*-metilpirrolidona. En otras realizaciones, los compuestos descritos en la presente memoria se administran usando un sistema de liberación lenta, tal como matrices semipermeables de polímeros hidrófobos sólidos que contienen el agente terapéutico. Diversos materiales de liberación sostenida son útiles en la presente memoria. En algunas realizaciones, las cápsulas de liberación sostenida liberan los compuestos durante unas pocas horas hasta más de 24 horas. 25 Dependiendo de la naturaleza química y la estabilidad biológica del reactivo terapéutico, se pueden emplear otras estrategias para la estabilización de proteínas.

30 En determinadas realizaciones, las formulaciones descritas en la presente memoria incluyen uno o más antioxidantes, agentes quelantes de metales, compuestos que contienen tiol y/u otros agentes estabilizantes generales. Los ejemplos de dichos agentes estabilizantes incluyen, pero no se limitan a: (a) aproximadamente 0,5% a aproximadamente 2% p/v de glicerol, (b) aproximadamente 0,1% a aproximadamente 1% p/v de metionina, (c) aproximadamente 0,1% a aproximadamente 2% p/v de monotioglicerol, (d) aproximadamente 1 mM a aproximadamente 10 mM de EDTA, (e) aproximadamente 0,01% a aproximadamente 2% p/v de ácido ascórbico, (f) 0,003% a aproximadamente 0,02% p/v de polisorbato 80, (g) 0,001% a aproximadamente 0,05% p/v de polisorbato 20, (h) arginina, (i) heparina, (j) sulfato de dextrano, (k) ciclodextrinas, (l) polisulfato de pentosán y otros heparinoides, (m) cationes divalentes tales como 35 magnesio y cinc; o (n) una de sus combinaciones.

## Tratamientos combinados

En general, las composiciones descritas en la presente memoria y, en realizaciones en las que se emplea politerapia en función del modo de acción descrito en la presente memoria, no tienen que administrarse otros agentes en la misma composición farmacéutica, y en algunas realizaciones, debido a las diferentes características físicas y químicas, se administran por diferentes vías. En algunas realizaciones, la administración inicial se realiza de acuerdo con protocolos establecidos, y luego, en base a los efectos observados, el médico experto modifica la dosis, los modos de administración y los tiempos de administración.

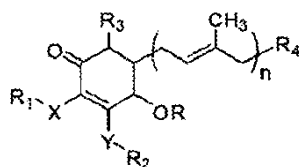
En algunas realizaciones, las dosis terapéuticamente eficaces varían cuando los fármacos se usan en combinaciones de tratamiento. Tratamiento combinado incluye además tratamientos periódicos que comienzan y terminan en varios momentos para ayudar al tratamiento clínico del paciente. Para las politerapias descritas en la presente memoria, las dosis de los compuestos coadministrados varían dependiendo del tipo de cofármaco empleado, del fármaco específico empleado, de la enfermedad, trastorno o afección que se está tratando y demás.

Se entiende que en algunas realizaciones, la posología para tratar, prevenir o mejorar la afección o afecciones para la que se busca alivio, se modifica según una variedad de factores. Estos factores incluyen el trastorno que sufre el paciente, así como la edad, peso, sexo, alimentación y enfermedad del paciente. Por lo tanto, en otras realizaciones, la posología realmente empleada varía ampliamente y, por lo tanto, se desvía de las posologías expuestas en la presente memoria.

Se pretende cubrir las combinaciones de compuestos (es decir, el compuesto de ciclohexenona descrito en la presente memoria) con otros agentes terapéuticos para la leucemia. En algunas realizaciones, los ejemplos de agentes terapéuticos de leucemia para contribuir a la remisión de la médula ósea incluyen, pero no se limitan a, los siguientes: prednisona, L-asparaginasa y vincristina, y similares. En algunas realizaciones, los ejemplos de terapia de consolidación o agentes de intensificación terapéuticos de la leucemia para eliminar cualquier célula de leucemia restante incluyen, pero no se limitan a, los siguientes: metotrexato, 6-mercaptopurina (6-MP), y similares.

Las combinaciones de los compuestos de ciclohexenona y otros agentes terapéuticos para la leucemia descritos en la presente memoria incluyen terapias y regímenes de tratamiento adicionales con otros agentes en algunas realizaciones. Dichas terapias y regímenes de tratamiento adicionales pueden incluir otra terapia para la leucemia en algunas realizaciones. Alternativamente, en otras realizaciones, las terapias y regímenes de tratamiento adicionales incluyen otros agentes usados para tratar afecciones adjuntas asociados a la leucemia o un efecto secundario de dicho agente en la politerapia. En otras realizaciones, los adyuvantes o potenciadores se administran en una politerapia descrita en la presente memoria.

En algunas realizaciones se proporcionan composiciones para tratar o reducir el riesgo de leucemia que comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de ciclohexenona que tiene la estructura:



en donde cada X e Y es independientemente oxígeno, NR<sub>5</sub> o azufre;

R es un hidrógeno o C(=O)alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>;

cada uno de R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> es independientemente un hidrógeno, metilo opcionalmente sustituido o (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-CH<sub>3</sub>;

R<sub>4</sub> es NR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>, OR<sub>5</sub>, OC(=O)R<sub>7</sub>, C(=O)OR<sub>5</sub>, C(=O)R<sub>5</sub>, C(=O)NR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>, halógeno, lactona de 5 o 6 eslabones, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, arilo, glucosilo, en donde la lactona de 5 o 6 eslabones, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, arilo y glucosilo están opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes seleccionados entre NR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>, OR<sub>5</sub>, OC(=O)R<sub>7</sub>, C(=O)OR<sub>5</sub>, C(=O)R<sub>5</sub>, C(=O)NR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> y haloalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>;

cada R<sub>5</sub> y R<sub>6</sub> es independientemente un hidrógeno o alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>;

R<sub>7</sub> es un alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, OR<sub>5</sub> o NR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>;

m = 1-12; y n = 1-12; o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables; y uno o más agentes terapéuticos para la leucemia.

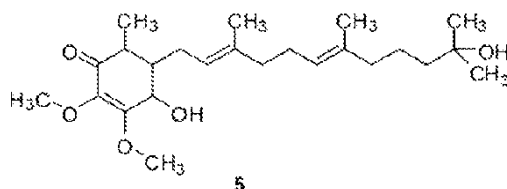
## Ejemplos

## Ejemplo 1: Preparación de los ejemplos de compuestos de ciclohexenona

5 Cien gramos de micelios, cuerpos fructíferos o mezcla de ambos de *Antrodia camphorata* se colocaron en un matraz. Se añadió al matraz una cantidad apropiada de agua y alcohol (solución de alcohol al 70-100%) y se agitó a 20-25°C durante al menos 1 hora. La solución se filtró a través de un filtro de membrana de 0,45 µm y el filtrado se recogió como el extracto.

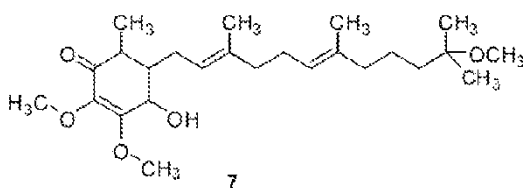
10 El filtrado de *Antrodia camphorata* se sometió a un análisis de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). La separación se realizó en una columna RP18, la fase móvil consistió en metanol (A) y 0,3% de ácido acético (B), con las condiciones de gradiente de 0-10 min en 95%-20% de B, 10-20 min en 20%-10% de B, 20-35 min en 10%-10% de B, 35-40 min en 10%-95% de B, al caudal de 1 ml/min. El efluente de la columna se controló con un detector UV-visible.

15 Las fracciones recogidas a los 21,2 a 21,4 minutos se concentraron para producir el compuesto **5**, un producto de un líquido amarillo pálido. El compuesto **5** se analizó resultando ser 4-hidroxi-5-(11-hidroxi-3,7,11-trimetildodeca-2,6-dienil)-2,3-dimetoxi-6-metilciclohex-2-enona con peso molecular de 408 (fórmula molecular: C<sub>24</sub>H<sub>40</sub>O<sub>5</sub>). <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) = 1,21, 1,36, 1,67, 1,71, 1,75, 1,94, 2,03, 2,07, 2,22, 2,25, 3,68, 4,05, 5,71 y 5,56. <sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 12,31, 16,1, 16,12, 17,67, 25,67, 26,44, 26,74, 27,00, 30,10, 40,27, 43,34, 59,22, 60,59, 71,8, 120,97, 123,84, 124,30, 131,32, 134,61, 135,92, 138,05, 160,45 y 197,11.



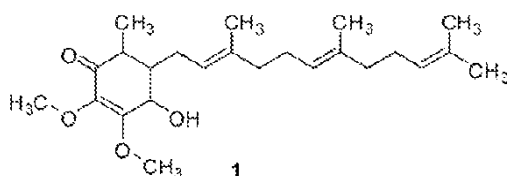
20 Compuesto **5**: 4-hidroxi-5-(11-hidroxi-3,7,11-trimetildodeca-2,6-dienil)-2,3-dimetoxi-6-metilciclohex-2-enona

25 Las fracciones recogidas a los 23,7 a 24,0 min se concentraron para producir el compuesto **7**, un producto de un líquido amarillo pálido. El compuesto **7** se analizó resultando ser 4-hidroxi-2,3-dimetoxi-5-(11-metoxi-3,7,11-trimetildodeca-2,6-dienil)-6-metilciclohex-2-enona con peso molecular de 422 (C<sub>25</sub>H<sub>42</sub>O<sub>5</sub>). <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) = 1,21, 1,36, 1,71, 1,75, 1,94, 2,03, 2,07, 2,22, 2,25, 3,24, 3,68, 4,05, 5,12, 5,50, y 5,61. <sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 12,31, 16,1, 16,12, 17,67, 24,44, 26,44, 26,74, 27,00, 37,81, 39,81, 40,27, 43,34, 49,00, 59,22, 60,59, 120,97, 123,84, 124,30, 135,92, 138,05, 160,45 y 197,12.



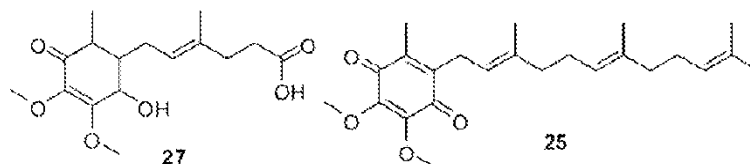
30 compuesto **7**: 4-hidroxi-2,3-dimetoxi-5-(11-metoxi-3,7,11-trimetildodeca-2,6-dienil)-6-metilciclohex-2-enona

35 Las fracciones recogidas entre 25 y 30 minutos se concentraron para producir 4-hidroxi-2,3-dimetoxi-6-metil-5-(3,7,11-trimetildodeca-2,6,10-trienil)ciclohex-2-enona (compuesto **1**), un producto de un líquido marrón amarillo pálido. El análisis del compuesto **1** mostró la fórmula molecular de C<sub>24</sub>H<sub>38</sub>O<sub>4</sub>, peso molecular de 390 con un punto de fusión de 48 a 52°C. Los espectros RMN mostraron que <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) = 1,51, 1,67, 1,71, 1,75, 1,94, 2,03, 2,07, 2,22, 2,25, 3,68, 4,05, 5,07 y 5,14. <sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) = 12,31, 16,1, 16,12, 17,67, 25,67, 26,44, 26,74, 27,00, 39,71, 39,81, 40,27, 43,34, 59,22, 60,59, 120,97, 123,84, 124,30, 131,32, 135,35, 135,92, 138,05, 160,45 y 197,12.

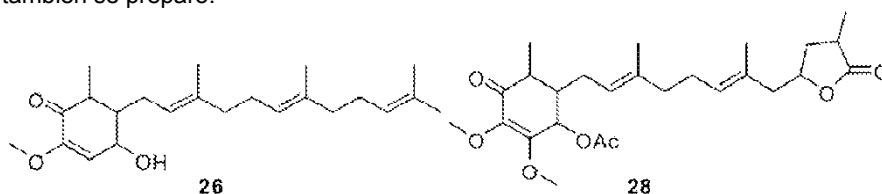


Compuesto 1: 4-hidroxi-2,3-dimetoxi-6-metil-5-(3,7,11-trimetildodeca-2,6,10-trienil)ciclohex-2-enona

El compuesto 27, un metabolito del compuesto 1, se obtuvo a partir de muestras de orina de ratas alimentadas con el compuesto 1 en el estudio en animales. Se determinó que el compuesto 27 era 4-hidroxi-2,3-dimetoxi-6-metil-5-(ácido 3-metil-2-hexenoico)ciclohex-2-enona con un peso molecular de 312 (C<sub>16</sub>H<sub>24</sub>O<sub>6</sub>). El compuesto 25 que se determinó como 2,3-dimetoxi-5-metil-6-((2E,6E)-3,7,11-trimetildodeca-2,6,10-trienil)ciclohexa-2,5-dieno-1,4-diona (peso molecular de 386,52, C<sub>24</sub>H<sub>34</sub>O<sub>4</sub>) se obtuvo a partir del proceso de purificación.

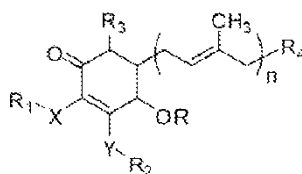


- 10 El compuesto 26, 4-hidroxi-2-metoxi-6-metil-5-((2E, 6E) -3,7,11-trimetildodeca-2,6,10-trienil)ciclohex-2-enona, también se preparó mediante el proceso de purificación con peso molecular de 350,53 (C<sub>23</sub>H<sub>36</sub>O<sub>3</sub>). El compuesto 28 también se preparó.



- 15 Alternativamente, los compuestos a modo de ejemplo pueden prepararse a partir de 4-hidroxi-2,3-dimetoxi-6-metilciclohexa-2,5-dienona o similares.

De manera similar, otros compuestos de ciclohexenona que tienen la estructura:



- 20 se aíslan de *Antrodia camphorata* o se preparan por síntesis o semisíntesis a partir de materiales de partida adecuados. Cualquier experto en la técnica utilizaría fácilmente las condiciones apropiadas para dicha síntesis.

Ejemplo 2: Estirpes celulares y preparación del cultivo celular

- 25 Se obtuvieron estirpes celulares de hepatoma humano (HepG2, Hep3B), adenocarcinoma pulmonar humano (A549, H838) y leucemia mielógena humana (K562) de la American Type Culture Collection (Rockville, MD, EE.UU.). Las estirpes celulares de cáncer de próstata humano (LNCaP y DU145), carcinoma de mama humano (MCF-7), carcinoma de vejiga humano (TSGH 8301) y el adenocarcinoma de páncreas humano (BxPC-3) se consiguieron en BCRC (Bioresource Collection and Research Center, Hsinchu, Taiwan). Las estirpes celulares HepG2, DU145 y MCF-7 se cultivaron en medio esencial mínimo Alpha (Invitrogen/Gibco BRL, Grand Island, NY, EE. UU.). Se cultivaron células A549 en medio de Eagle modificado de Dulbecco (Invitrogen/Gibco BRL). Las estirpes celulares H838, TSGH 8301, BxPC-3 LNCaP y K562 se cultivaron en medio RPMI-1640 (Invitrogen/Gibco BRL). Todas las células se cultivaron a 37°C en CO<sub>2</sub> al 5% en medio de cultivo enriquecido con 10% de suero bovino fetal (FBS) (Invitrogen/Gibco BRL) y 100 U/ml de estreptomycin y penicilina (Invitrogen/Gibco BRL). Para el tratamiento, las células se sembraron en placas de seis pocillos a razón de 6,25 x 10<sup>5</sup> células/pocillo. Al día siguiente, los medios se cambiaron a medios sin suero, y las células se privaron de suero durante 24 h. El compuesto 1 se disolvió en DMSO y se diluyó a la concentración requerida en medio sin suero. Los cultivos se trataron luego con el compuesto 1 diluido como se indica. Después del tratamiento, las células se lavaron con solución salina tamponada con fosfato fría (PBS) y se lisaron usando amortiguador RIPA que contenía inhibidores de fosfatasa y proteasa.

Ejemplo 3: Análisis de inmunotransferencia



Sesenta microgramos de lisados de proteína total medidos usando un ensayo de Bradford (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EE.UU.) se resolvieron en geles de SDS-poliacrilamida al 12,5%. La electroforesis se realizó a un voltaje constante de 180 V durante 50 minutos (min). Los geles se transfirieron a membranas de PVDF a una corriente constante de 280 mA durante 90 minutos. Las transferencias se bloquearon con 3% de albúmina de suero bovino (BSA) y se sondaron con una dilución de anticuerpos 1:1.000 frente a fosfo-p44/42 (ERK1/2) (Thr202/Tyr204) (Cell Signaling Technology, Danvers, MA, EE.UU.), p44/42MAPK (ERK1/2), Beclin-1 (Cell Signaling Technology), LC3B (Novus Biologicals, Cambridge, Reino Unido), EGFR (Epitomics Inc, Santa Clara, CA), Ras, GAPDH o  $\beta$ -actina (Sigma-Aldrich). Los anticuerpos secundarios se conjugaron con peroxidasa de rábano picante, que se detectó usando un kit de sustrato 3,3'-diaminobenzidina (Vector Laboratories, Burlingame, CA). Las bandas inmunorreactivas se cuantificaron por densitometría usando el programa informático Image-Pro Plus (Media Cybernetics, Silver Spring, MD).

#### Ejemplo 4: Ensayo de viabilidad de células CCK-8

Cell Counting Kit-8 (CCK-8) permite ensayos colorimétricos sensibles para la determinación de la viabilidad celular en ensayos de citotoxicidad y proliferación celular. La sensibilidad de detección de CCK-8 es mayor que la de las otras sales de tetrazolio tales como MTT, XTT, MTS o WST-1.

La viabilidad celular se midió utilizando Cell Counting Kit-8 (CCK-8, Enzo Life Sciences, Farmingdale, NY). En este ensayo, WST-8 se reduce por deshidrogenasas en las células para producir un producto de color amarillo (formazán), que es soluble en medio de cultivo. La cantidad de formazan generada es directamente proporcional al número de células vivas. Después del tratamiento, se añadió solución de CCK-8 a cada pocillo y se incubó durante 4 h. La concentración de formazán se midió con un espectrofotómetro a una longitud de onda de absorbancia de 450 nm. La viabilidad celular se expresó como un porcentaje de la referencia correspondiente.

#### Ejemplo 5: Ensayo de preniltransferasa basado en SDS-PAGE

Se llevaron a cabo reacciones de prenilación *in vitro* en 20  $\mu$ l de amortiguador de reacción (HEPES 50 mM, pH 7,2, NaCl 50 mM, MgCl<sub>2</sub> 5 mM, DTT 5 mM y GDP 20  $\mu$ M) mezclado con 3  $\mu$ g de FTasa (Jena, (Alemania), NBD-FPP 25  $\mu$ M, y 2  $\mu$ g de H-Ras<sup>GST</sup> en presencia o ausencia de varias concentraciones de Antroquinonol. Las reacciones se incubaron durante 3 horas a 37°C y se inactivaron añadiendo 20  $\mu$ l de amortiguador de muestra 2x SDS-PAGE e hirviendo a 95°C durante 3 min. Por último, las mezclas se resolvieron mediante SDS-PAGE al 15%. El gel se exploró con un escáner Typhoon 9400 (GE Healthcare, Reino Unido) (láser de excitación, 473 nm, filtro de límite de emisión, 510 nm) seguido de tinción con Coomassie azul. Las bandas fluorescentes se cuantificaron utilizando el programa informático Image-Pro Plus (Media Cybernetics, Silver Spring, MD, EE.UU.).

#### Ejemplo 6: Tinción inmunofluorescente y DAPI

Se sembraron células en cubreobjetos de vidrio en placas de seis pocillos. Después de una incubación durante la noche, las células se trataron con las concentraciones indicadas de compuesto 1 durante 24 h. Después del tratamiento, las células se fijaron con paraformaldehído al 4% en PBS durante 5 minutos y se permeabilizaron con Triton X-100 al 0,1% en PBS durante 5 minutos. Las células se incubaron en BSA al 3% como agente bloqueador durante 30 minutos. Las células se incubaron luego con un anticuerpo policlonal de conejo contra LC3B (Sigma-Aldrich) a temperatura ambiente durante 90 minutos. Después de lavar tres veces consecutivamente con Triton X-100 al 0,1% en PBS, las células se incubaron con un anticuerpo secundario conjugado con isotiocianato de fluoresceína (Invitrogen Life Technologies, Paisley, Escocia, R.U.) a temperatura ambiente durante 60 minutos. Las células se montaron con Dapi-Fluoromount-G™ (SouthernBiotech, Birmingham, AL, EE.UU.) y se visualizaron por microscopia de fluorescencia confocal usando un Zeiss LSM 780 plus ELYRA S.1.

#### Ejemplo 7: Determinación de los efectos citotóxicos del compuesto 1 y sus derivados, análogos y un metabolito

Para determinar si los efectos citotóxicos del compuesto 1 se correlacionan con la presencia de mutaciones *Ras*, se usaron estirpes celulares procedentes de cáncer de pulmón humano (A549 y H838), cáncer de hígado (HepG2 y Hep3B), y leucemia (K562 y THP-1) con *Ras* natural (H838, Hep3B, y K562) o *Ras* mutante (A549, HepG2, y THP-1). La viabilidad celular se midió después de 48 h de tratamiento del compuesto 1. Las estirpes celulares y sus IC<sub>50</sub> en orden creciente fueron THP-1 (2,22  $\mu$ M) < A549 (3,24  $\mu$ M) < H838 (3,32  $\mu$ M) < Hep3B (3,74  $\mu$ M) < K562 (5,12  $\mu$ M) < HepG2 (6,42  $\mu$ M) (Tabla 1). Por lo tanto, la sensibilidad al compuesto 1 no se correlacionó con el estado del gen *Ras*, ya que el compuesto 1 presentaba una excelente actividad citotóxica en todas las estirpes celulares descritas en la presente memoria.

Tabla 1. Valores de IC<sub>50</sub> de compuestos ejemplares de fórmula X determinados por el ensayo de viabilidad de células CCK-8.

compuesto	A549	H838	Hep3B	HepG2	K562	THP-1
1	3,24±0,35	2,96±0,05	3,74±0,35	6,42±0,08	5,12±0,83	2,22±0,03

compuesto	A549	H838	Hep3B	HepG2	K562	THP-1
25	-	22,56±6,45	-	-	-	-
26	-	11,34±4,17	-	-	-	-
27	-	>100	-	-	-	-
28	-	>100	-	-	-	-
29	-	>100	-	-	-	-
30	22,61±2,24	25,56±6,54	9,06±3,03	27,03±6,06	-	-
31	6,68±0,75	3,41±1,43	7,46±7,06	8,98±0,97	-	-

Los valores se presentaron como medias  $\pm$  S.E.M.

Los resultados indican que la sensibilidad al ejemplo del compuesto 1 no se correlacionaba con el estado del gen *Ras*, ya que el compuesto 1 presentaba una actividad citotóxica excelente en todas las estirpes celulares. Además, en base a los valores de  $Cl_{50}$  para los análogos del compuesto 1 (compuestos 25 a 31) en las células H838 indicaba que el grupo 2'-hidroxi y el grupo farnesilo del compuesto 1 eran importantes por sus efectos citotóxicos.

Ejemplo 8: Evaluación del impacto del compuesto 1 en el nivel de ERK1/2 fosforilado

Para evaluar el impacto del compuesto 1 sobre la señalización de MAP cinasa, las células HepG2, A549 y H838 se trataron con una amplia gama de concentraciones del compuesto 1, y se realizaron inmunotransferencias para ERK1/2 fosforilado y total. El compuesto 1 indujo la fosforilación de ERK1/2 en células HepG2 y A549, mientras que el nivel de expresión total de ERK1/2 no se vio afectado (FIG. 1). Sin embargo, en células H838, el aumento en la fosforilación de ERK1/2 después del tratamiento con el compuesto 1 fue coincidente con el aumento de expresión de ERK1/2 total. Por lo tanto, en general, el compuesto 1 indujo un aumento en la fosforilación de ERK1/2 en estirpes celulares de cáncer.

Ejemplo 9: Estudio de la fosforilación de ERK1/2 en células A549 por el compuesto 1

En un informe anterior, se demostró que el compuesto 1 inhibía la señalización de PI3K en células A549 (Kumar V. B., *et al.*, *Mutat. Res.* 10 de febrero de 2011; 707(1-2):42-52). Aquí, se demostró que el compuesto 1 del ejemplo aumenta la fosforilación de ERK1/2 en células A549. Ras es un regulador aguas arriba de PI3K y ERK1/2. Para comprender mejor las vías de señalización celular que conducen a la muerte de células cancerosas mediada por el compuesto 1 y para identificar con mayor precisión el objetivo citosólico del compuesto 1, se investigó la contribución de Ras. Los experimentos se llevaron a cabo en condiciones con suero y sin suero utilizando células A549 y H838, que se trataron con diferentes concentraciones de compuesto 1 durante 24 h. Se detectaron dos bandas distintas en inmunotransferencias sondados para Ras. La banda de migración más lenta correspondía a Ras sin transformar, mientras que la banda de migración más rápida representaba Ras completamente transformado. El compuesto 1 dio lugar a una acumulación de Ras sin tratar en ambas estirpes celulares en condiciones con suero y sin suero (FIG. 2A). Además, el compuesto 1 provocó una acumulación en función de la dosis de Ras sin transformar en células H838, HepG2 y K562 (FIG. 2B y 2C). Los resultados muestran que el compuesto 1 inhibe la transformación de Ras en células cancerosas.

Ejemplo 10: Evaluación de los efectos del compuesto 1 sobre la actividad de la proteína FTasa y la prenilación de Ras dependiente de FPP en cultivo celular

La modificación tras la traducción de Ras es esencial para su activación. El primer paso que obliga a Ras a activarse es prenilación por la enzima FTasa. La comparación de las estructuras químicas de compuesto 1 y FPP, que es un donador de grupo prenilo para Ras, demostró que ambos compuestos tienen la misma cadena de lípidos C15 (FIG. 3A). Por lo tanto, se evaluaron los efectos del compuesto 1 sobre la actividad de la proteína FTasa y la prenilación de Ras dependiente de FPP en el cultivo celular. Los resultados indicaron que el compuesto 1 solo aumentó significativamente la acumulación de Ras sin transformar. Además, FPP solo potenció la transformación de Ras en células H838. Los ensayos de competencia demostraron que FPP neutralizaba el efecto del compuesto 1 en la transformación de Ras a concentraciones tan bajas como 10  $\mu$ M (FIG. 3B). Además, un ensayo de actividad enzimática *in vitro* demostró que el compuesto 1 logró la inhibición en función de la dosis de la actividad FTasa (FIG. 3C). Los

resultados demuestran que el compuesto **1** inhibe la actividad de la proteína FTasa y es competitivo con FPP en el cultivo celular.

#### Ejemplo 11: Acoplamiento molecular del compuesto **1** en la proteína FTasa

5 La secuencia de aminoácidos para FTasa (nº de ingreso: IJCQ\_A) se descargó de la base de datos de proteínas del National Center for Biotechnology Information. Se aplicó un algoritmo de acoplamiento molecular CDOCKER-A CHARMm para predecir y evaluar la interacción entre el compuesto **1** y la secuencia CAAX de FTasa (véase, p. ej., Wu G., *et al.*, Vieth M. (2003) Detailed analysis of grid-based molecular docking: A case study of CDOCKER-A CHARMm-based MD docking algorithm. *Journal of Computational Chemistry* 24 (13): 1549-1562). Para limitar el sesgo, todos los parámetros ajustables por el usuario se mantuvieron en sus configuraciones predeterminadas.

10 Para predecir las supuestas interacciones entre FTasa y ejemplos de compuestos de ciclohexenona descritos en la presente memoria (p. ej., el compuesto **1**), se llevó a cabo un método de acoplamiento molecular usando el programa Dock Ligands (CDOCKER). Usando la estructura cristalina de FTasa (PDB ID IJCQ) como plantilla, se construye un modelo de acoplamiento para caracterizar la interacción entre el compuesto **1** y el motivo CAAX en FTasa. Los estudios de acoplamiento demostraron que el compuesto **1** y el FPP se unen en una orientación similar a la zona activa de FTasa (FIG. 4A-B). El grupo farnesilo del compuesto **1** se encuentra en la cavidad hidrofoba e interacciona con un número de restos aromáticos conservados. La estructura del anillo con los grupos funcionales del compuesto **1** y el resto difosfato de FPP se localiza cerca de la interfase de la subunidad  $\alpha/\beta$ . Los efectos citotóxicos de los análogos del compuesto **1** indican que la longitud de la unidad de isopreno y el grupo 2'-hidroxi desempeñan funciones vitales en la mediación de la actividad citotóxica.

20 El modelo de acoplamiento también se puede usar para explicar las diferencias en los perfiles citotóxicos de los análogos del compuesto **1**. Se ha demostrado que el número de unidades de isopreno influye en la afinidad de unión de los isoprenoides por la FTasa. El grupo 2'-hidroxi del compuesto **1** puede formar enlaces de hidrógeno intermoleculares con el resto de tirosina, Y300b (FIG. 4C). Además, la disposición espacial de la estructura de anillo del compuesto **1** indicó que el grupo 3-metoxi está situado en un espacio desocupado cerca de la interfase de las subunidades FTasa. Por lo tanto, es probable que el demetoxi-compuesto **1** muestre una  $CI_{50}$  solo ligeramente menor que el prototipo, compuesto **1**. Estos resultados proporcionan importantes conocimientos estructurales sobre la arquitectura específica del compuesto **1** y el motivo CAAX en FTasa (FIG. 4D), lo que ayudará al diseño racional de los compuestos de ciclohexenona activos descritos en la presente memoria (p. ej., compuestos análogos del compuesto **1**).

#### 30 Ejemplo 12: Aumento de actividad autofágica del compuesto **1** en células cancerosas

Las investigaciones previas de los inventores indicaron que el compuesto **1** produce apoptosis y/o muerte celular autofágica en estirpes celulares de cáncer humano por la vía P13K/mTOR. Ras se encuentra aguas arriba de P13K y se ha demostrado que regula negativamente la actividad autofágica en las células NIH3T3 transformadas por Ras Val12. Aquí, el nivel de autofagia inducida por el compuesto **1** en una estirpe celular de cáncer de pulmón se midió por análisis de inmunotransferencia de Beclin-1 y LC3B. Los autofagosomas que contienen LC3B se visualizaron por microscopia confocal. Los resultados indicaron que la expresión de Beclin-1 aumentó a las 24 h y 48 h después del tratamiento con el compuesto **1** (FIG. 5A-B). El compuesto **1** también produjo la conversión autofágica de LC3B-I a LC3B-II. Además, se observaron autofagosomas asociados a LC3B-H (manchas fluorescentes verdes) mediante microscopia confocal (FIG. 5C).

#### 40 Análisis estadístico

Los resultados de los ejemplos se expresaron como la media  $\pm$  error típico de la media (SEM) de tres experimentos independientes. Se realizó un análisis estadístico ANOVA por pares de factor único para determinar la significación en las diferencias. Un valor P de dos colas inferior a 0,05 se consideró significativo.

#### Ejemplo 13: Prueba de eficacia del compuesto **1** en el modelo de xenotrasplante de cáncer de leucemia

45 Se adquirieron ratones CB.17 SCID de seis a siete semanas de edad de BioLasco Taiwan Co., LTD. y se pusieron en cuarentena durante una semana. Durante el período del experimento, se alojarán 5 ratones en una jaula. Todos los animales se albergarán en la instalación para animales Da-Hu en un ciclo de 12 horas de luz/12 horas a oscuras a 19-25°C. Los animales tienen acceso libre a comida de granulado para roedores y agua a discreción. El protocolo experimental de estudio con animales fue revisado y aprobado por el Institutional Animal Care and Use Committee, DCB. El compuesto **1** se diluyó en aceite de oliva hasta concentraciones finales de 12 mg/ml.

50 Estirpe celular tumoral: Se cultivaron células THP-1 (leucemia) en medio RPMI-1640 o medio DMEM que se enriqueció con suero bovino fetal inactivado por calor al 10%. Las células se cultivaron en matraces de cultivo hístico en una incubadora humidificada a 37°C, en una atmósfera de 5% de CO<sub>2</sub> y 95% de aire.

#### Implantación *in vivo*

Las células cancerosas humanas utilizadas para la implantación se recogieron durante el crecimiento de la fase logarítmica y se volvieron a poner en suspensión en solución salina amortiguada con fosfato a una concentración que contenía  $2 \times 10^7$  células/ml de THP-1 en 0,1 ml de una solución de Matrigel al 50% (BD Biosciences, MA, EE. UU. ) Cuando el volumen tumoral promedio había alcanzado  $150 \text{ mm}^3$ , los ratones se dividieron aleatoriamente en 2 grupos y se les administró artículos de prueba. El volumen se calculó usando la fórmula:

$$\text{Volumen del tumor} = (w^2 \times l)/2$$

donde  $w$  = ancho y  $l$  = longitud en diámetro (mm) del tumor.

Tratamiento

La siguiente tabla presenta un resumen del plan de tratamiento. Todos los tratamientos del compuesto 1 se administraron por sonda oral (PO) dos veces/día (bld) y 5 días/semana durante 4 semanas. Todas las dosis se administraron en un volumen de 10 ml/kg de peso corporal. El grupo del vehículo recibió el mismo volumen de aceite de oliva que sirvió como grupo de referencia para el cálculo de la tasa de inhibición del crecimiento tumoral.

Grupo	N	Régimen de tratamiento			
		Agente	Dosis	Vía	Programa
1	5	Vehículo (aceite de oliva)	-	PO	bID x 5días/sem x 4 sem
2	5	compuesto 1	120 mg/kg	PO	bID x 5días/sem x 4 sem

15 Evaluaciones del volumen tumoral y del peso corporal

Se midieron los tumores dos veces por semana usando calibres. El porcentaje de inhibición del crecimiento tumoral (TGI) se calculó usando la siguiente fórmula:

$$\%TGI = [1 - (T/C) \times 100\%$$

20 donde T y C representan los volúmenes tumorales medios del grupo de tratamiento y el grupo de referencia, respectivamente. Los animales se pesaron dos veces a la semana hasta la finalización del estudio. El cambio de peso corporal se calculó como aumento de porcentaje en el peso corporal comparado con el peso corporal inicial.

Análisis de los datos

25 Los datos se expresaron como media  $\pm$  SEM. Las comparaciones entre los dos grupos se realizaron utilizando la prueba de la  $t$  de Student. Un valor de  $p < 0,05$  se consideró una diferencia estadísticamente significativa.

Resultados

30 La FIG. 8 muestra casi ningún cambio en el peso corporal de los ratones con xenotrasplante THP-1 tratados con el compuesto de prueba. Los ratones con tumores se trataron con vehículo (aceite de oliva) o compuesto 1 a 120 mg/kg por sonda oral dos veces al día y 5 días a la semana durante 4 semanas. El peso corporal se midió dos veces a la semana.

La FIG. 9 muestra la disminución del volumen tumoral de los ratones con xenotrasplante THP-1 tratados con el compuesto de prueba. Los ratones con tumores se trataron con vehículo (aceite de oliva) o Antroquinonol a razón de 120 mg/kg por sonda oral dos veces al día y 5 días a la semana durante 4 semanas. El volumen del tumor se midió dos veces a la semana. \*\*\*  $P < 0,005$  comparado con el vehículo de referencia.

35 La FIG. 10 muestra la disminución del peso de la masa tumoral en el punto final de ratones con xenotrasplante THP-1 tratados con el compuesto de prueba.

Estos resultados demuestran claramente la efectividad y eficacia del ejemplo del compuesto 1 del ejemplo de la invención en el tratamiento del cáncer de leucemia basado en el modelo de xenotrasplante.

40 Ejemplo 14: Uso del compuesto 1 para el tratamiento de pacientes con leucemia mieloide aguda, mielodisplasia, linfoma no hodgkiniano o mieloma múltiple

Ensayo clínico para estudiar la eficacia de los compuestos de cidohexenona descritos en la presente memoria tal como el compuesto **1** en el tratamiento de pacientes que tienen leucemia mieloide aguda, mielodisplasia, linfoma no hodgkiniano o mieloma múltiple.

Tipo de estudio: Intervención

5 Diseño del estudio: Enmascaramiento: estudio abierto

Propósito principal: Tratamiento

Objetivos:

Determinar la capacidad del compuesto **1** en el tratamiento de pacientes con leucemia mieloide aguda, mielodisplasia, linfoma no hodgkiniano o mieloma múltiple.

10 Determinar el efecto de este régimen de tratamiento en estos pacientes.

Determinar la seguridad y eficacia antitumoral potencial de este régimen de tratamiento en estos pacientes.

Resumen: Los pacientes reciben el compuesto 1 por vía oral los días 1-12. Los pacientes con leucemia mieloide aguda que responden al tratamiento pueden recibir un segundo ciclo aproximadamente 10 días después al final del primero. Los ciclos posteriores en estos pacientes, y todos los demás ciclos adicionales en todos los demás pacientes, se repiten cada 21 a 28 días en ausencia de evolución de la enfermedad o de toxicidad inaceptable.

15

Requisitos para admisión

Edades elegibles para el estudio: 18 años y mayores

Géneros elegibles para el estudio: Ambos

Acumulación proyectada: Se acumularán un total de 20 pacientes para este estudio.

20 Criterio

Características de la enfermedad:

Diagnóstico de una de las siguientes enfermedades neoplásicas:

Leucemia mieloide aguda

Mielodisplasia

25 Linfoma no hodgkiniano de grado bajo o intermedio

Mieloma múltiple

Tratamiento convencional anterior fallido y no existe otro tratamiento curativo conocido

30 Los pacientes con linfoma no hodgkiniano deben tener células tumorales en la médula ósea o derrames malignos accesibles para aspiración de médula ósea o paracentesis/toracentesis. NOTA: PDQ ha adoptado un nuevo esquema de clasificación para el linfoma no hodgkiniano en adultos. La terminología de linfoma "indolente" o "agresivo" reemplazará la anterior terminología de linfoma de grado "bajo", "intermedio" o "alto". Sin embargo, este protocolo usa la terminología anterior.

Características del paciente

Edad: 18 años

35 Estado de rendimiento: Karnofsky 60-100%

Esperanza de vida: no especificada

Hematopoyético: pacientes sin leucemia o mieloma:

WBC al menos 2.500/mm<sup>3</sup>; recuento de plaquetas al menos 75.000/mm<sup>3</sup>

Hepático: Bilirrubina inferior a 2,5 mg/dl

40 Renal: Creatinina inferior a 2,5 mg/dl

Otro: No está embarazada o amamantando; prueba de embarazo negativa; las pacientes fecundas deben usar anticoncepción eficaz durante el estudio y 4 semanas después

Tratamiento simultáneo previo:

Bioterapia: no especificada

5 Quimioterapia: pacientes sin leucemia: al menos 3 semanas desde la quimioterapia citotóxica anterior

Terapia endocrina: no especificada

Radioterapia: pacientes sin leucemia: al menos 3 semanas desde la radioterapia anterior

Cirugía: no especificada

Ejemplo 15: Formulación oral

10 Para preparar una composición farmacéutica para administración oral, se mezclaron 100 mg de un compuesto **1** del ejemplo con 100 mg de aceite de maíz. La mezcla se incorporó a una dosis individual oral en una cápsula, que es adecuada para la administración oral.

15 En algunos casos, 100 mg de un compuesto descrito en la presente memoria se mezclan con 750 mg de almidón. La mezcla se incorpora en una dosis individual oral tal como una cápsula de gelatina dura, que es adecuada para administración oral.

Ejemplo 16: Formulación sublingual (pastilla dura)

20 Para preparar una composición farmacéutica para administración bucal, tal como una pastilla dura, mezclar 100 mg de un compuesto descrito en la presente memoria, con 420 mg de azúcar en polvo mezclados, con 1,6 ml de jarabe de maíz ligero, 2,4 ml de agua destilada, y 0,42 ml de extracto de menta. La mezcla se mezcla suavemente y se vierte en un molde para formar una pastilla adecuada para administración bucal.

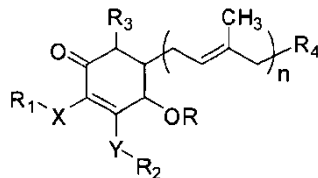
Ejemplo 17: Composición para inhalación

25 Para preparar una composición farmacéutica para administración por inhalación, se mezclan 20 mg de un compuesto descrito en la presente memoria con 50 mg de ácido cítrico anhidro y 100 ml de solución de cloruro sódico al 0,9%. La mezcla se incorpora en una unidad de administración por inhalación, tal como un nebulizador, que es adecuada para administración por inhalación.

Aunque se han mostrado y se describen en la presente memoria realizaciones preferidas de la presente invención, será obvio para los expertos en la técnica que dichas realizaciones se proporcionan solo a modo de ejemplo.

## REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de ciclohexenona que tiene la estructura:



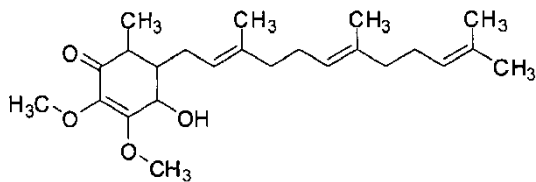
- 5
- en donde cada X e Y es independientemente oxígeno, NR<sub>5</sub> o azufre;
- R es un hidrógeno o C(=O)alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>;
- 10 cada uno de R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> es independientemente un hidrógeno, metilo opcionalmente sustituido o (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-CH<sub>3</sub>;
- 15 R<sub>4</sub> es NR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>, OR<sub>5</sub>, OC(=O)R<sub>7</sub>, C(=O)OR<sub>5</sub>, C(=O)R<sub>5</sub>, C(=O)NR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>, halógeno, lactona de 5 o 6 eslabones, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, arilo, glucosilo, en donde la lactona de 5 o 6 eslabones, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, arilo y glucosilo están opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes seleccionados entre NR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>, OR<sub>5</sub>, OC(=O)R<sub>7</sub>, C(=O)OR<sub>5</sub>, C(=O)R<sub>5</sub>, C(=O)NR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> y haloalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>;
- cada R<sub>5</sub> y R<sub>6</sub> es independientemente un hidrógeno o alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>;
- R<sub>7</sub> es un alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, OR<sub>5</sub> o NR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>;
- m = 1-12; y n = 1-12; o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables para su uso en el tratamiento o la reducción del riesgo de leucemia en un paciente.
- 20 2. La composición para el uso de la reivindicación 1, en la que la leucemia es una leucemia aguda.
3. La composición para el uso de la reivindicación 1, en la que la leucemia es leucemia crónica.
4. La composición para el uso de la reivindicación 2, en la que la leucemia aguda es una leucemia mielóide aguda, leucemia eritroide aguda, leucemia linfoblástica aguda, leucemia linfoblástica aguda de linfocitos T, leucemia/linfoma de linfocitos T en adultos, leucemia/linfoma linfoblástico agudo de precursores T o crisis blástica de leucemia mielógena crónica.
- 25 5. La composición para el uso de la reivindicación 3, en la que la leucemia crónica es una leucemia mielógena crónica, leucemia linfocítica crónica, leucemia de tricoleucocitos.
6. La composición para el uso de la reivindicación 5, en la que la leucemia crónica es una leucemia mielógena crónica.
7. La composición para el uso de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicho compuesto de ciclohexenona, o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables, se usa por vía oral, parenteral, intravenosa, o inyectable.
- 30 8. La composición para el uso de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicho paciente es humano.
9. La composición para el uso de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que R es un hidrógeno, C(=O)C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>, C(=O)C<sub>2</sub>H<sub>5</sub> o C(=O)CH<sub>3</sub>.
- 35 10. La composición para el uso de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que cada uno de R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> es independientemente hidrógeno, metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, hexilo, heptilo u octilo.
11. La composición para el uso de la reivindicación 10, en la que cada uno de R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> independientemente es un hidrógeno o metilo.
- 40 12. La composición para el uso de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde R<sub>4</sub> es C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>OH, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>COOH, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>COOH, CH<sub>2</sub>OH, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH, CH<sub>2</sub>Ph, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>Ph, CH<sub>2</sub>CH=C(CH<sub>3</sub>)(CHO), CH<sub>2</sub>CH=C(CH<sub>3</sub>)(C(=O)CH<sub>3</sub>), lactona, arilo o glucosilo de 5 o 6 eslabones, en donde la lactona, arilo y glucosilo de 5 o 6 eslabones están opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes seleccionados de NR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>, OR<sub>5</sub>, OC(=O)R<sub>7</sub>, C(=O)OR<sub>5</sub>, C(=O)R<sub>5</sub>, C(=O)NR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> y

haloalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>.

13. La composición para su uso de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que R<sub>4</sub> es alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de NR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>, OR<sub>5</sub>, OC(=O)R<sub>7</sub>, C(=O)OR<sub>5</sub>, C(=O)R<sub>5</sub>, C(=O)NR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> y haloalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>.

14. La composición para el uso de la reivindicación 13, en donde R<sub>4</sub> es CH<sub>2</sub>CH=C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.

15. La composición para el uso de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde dicho compuesto es



10



FIG. 1

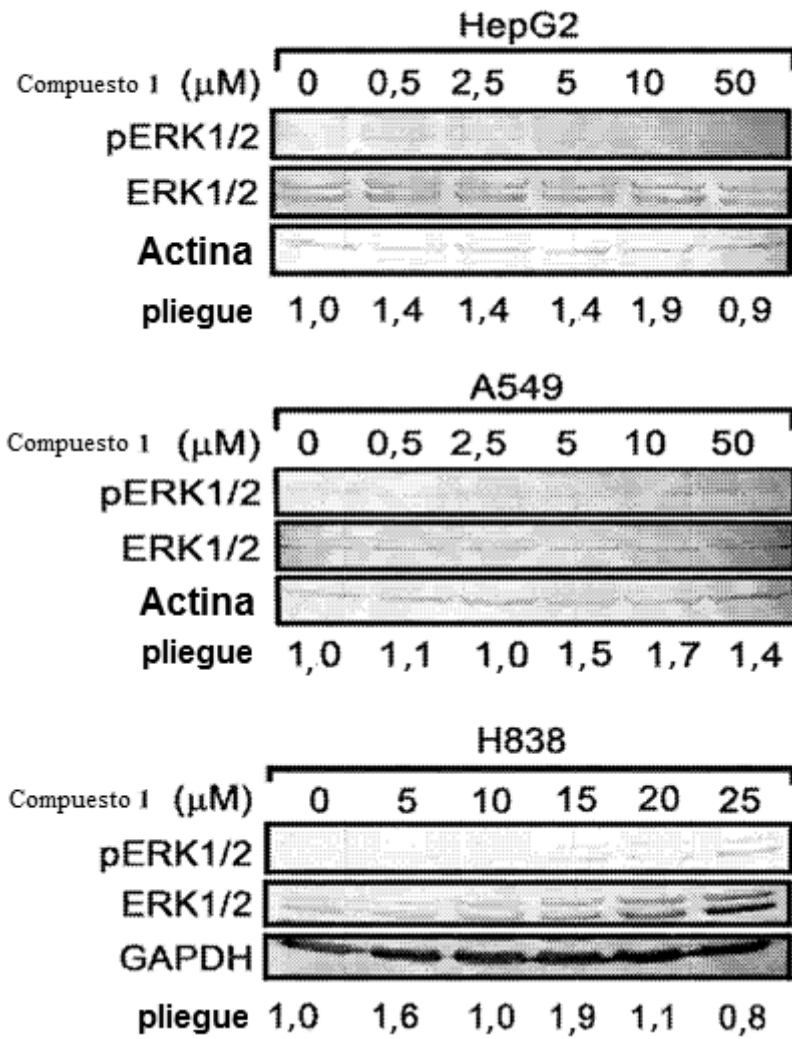


FIG. 2A-C

FIG. 2 A

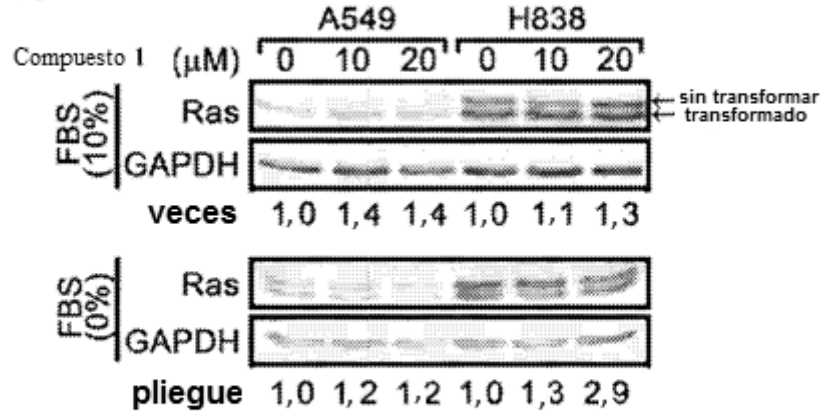


FIG. 2 B

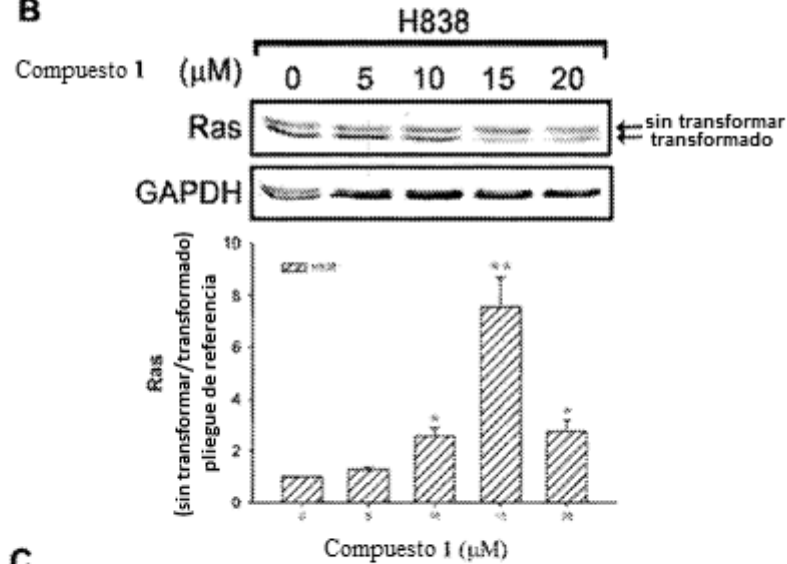


FIG. 2 C

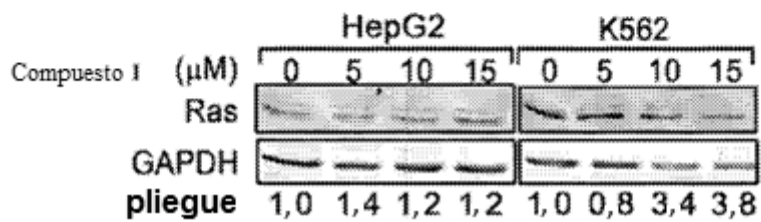


FIG. 3A-C

FIG. 3 A

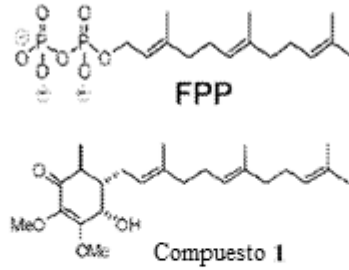


FIG. 3 B

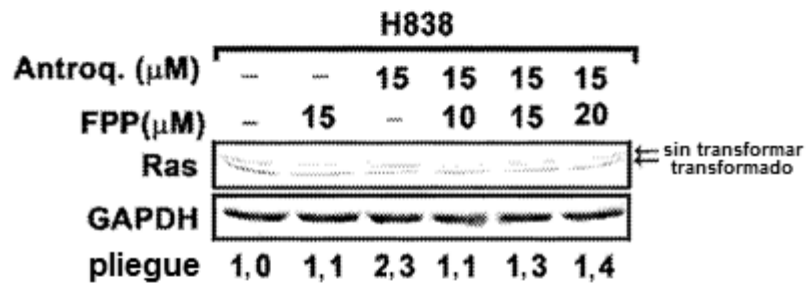


FIG. 3 C

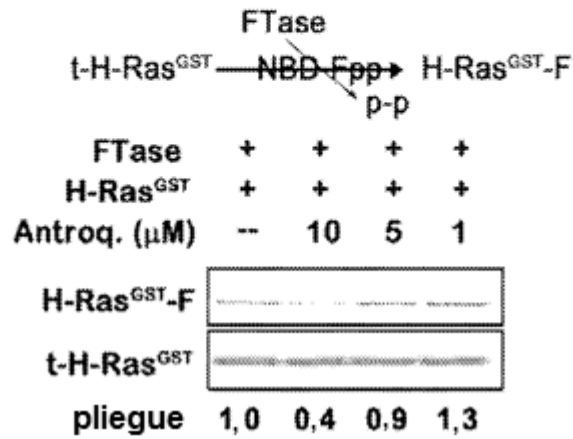


FIG. 4  
**A**

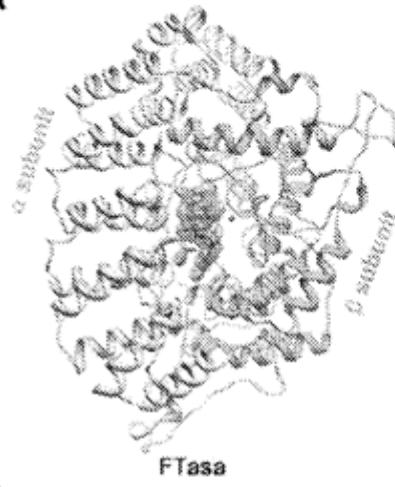


FIG. 4A-D

FIG. 4  
**B**

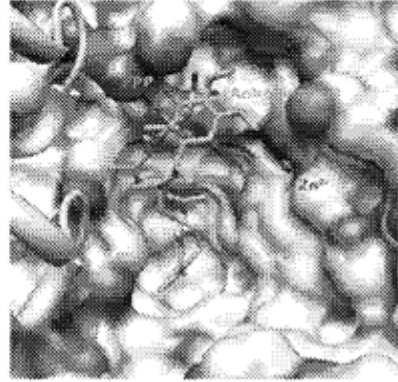


FIG. 4 C

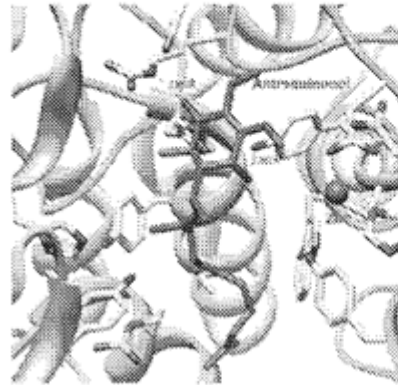


FIG. 4  
**D**

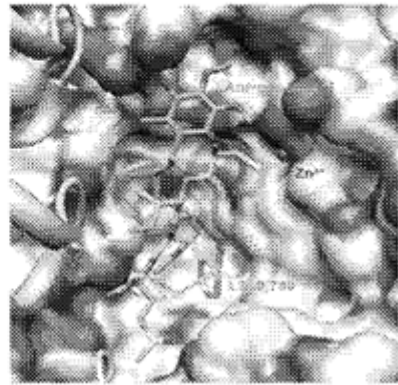


FIG. 5A-C

FIG. 5 A

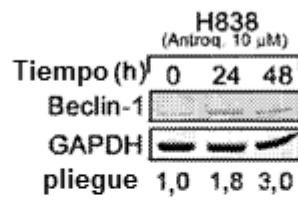


FIG. 5 B

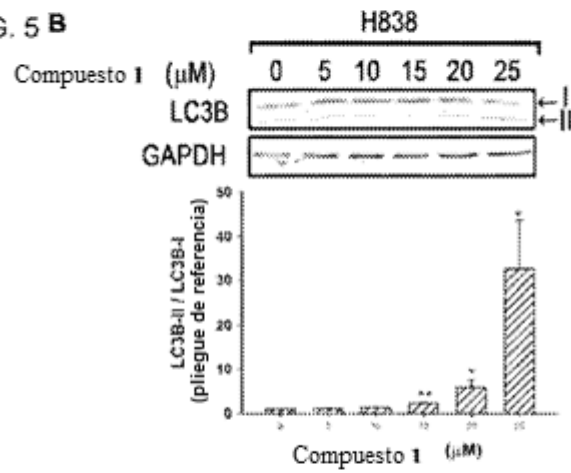


FIG. 5 C

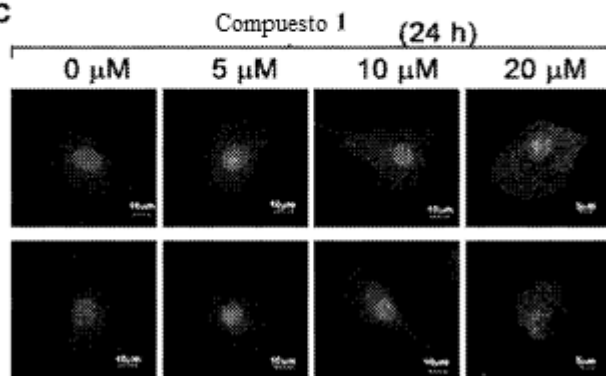


FIG. 6

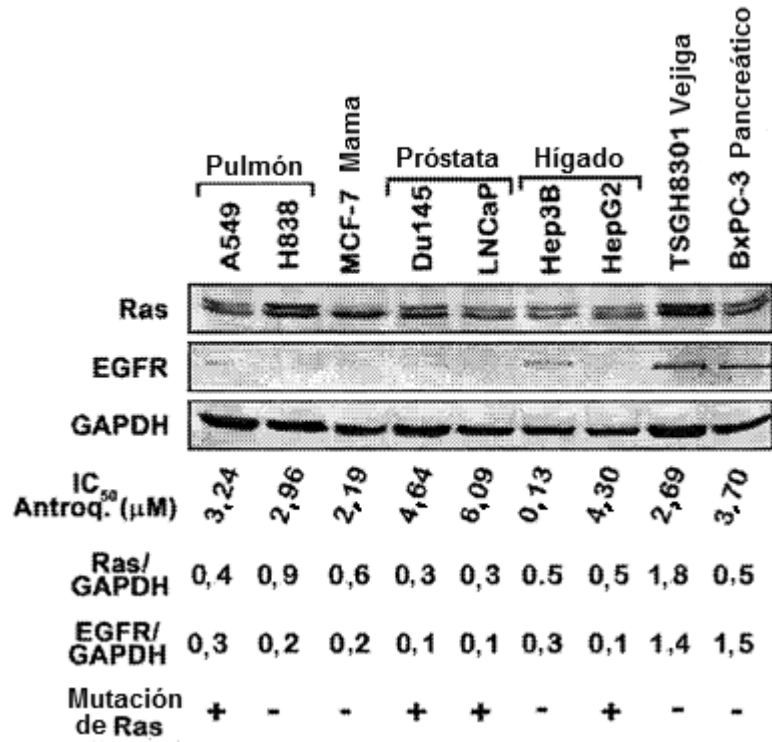


FIG. 7

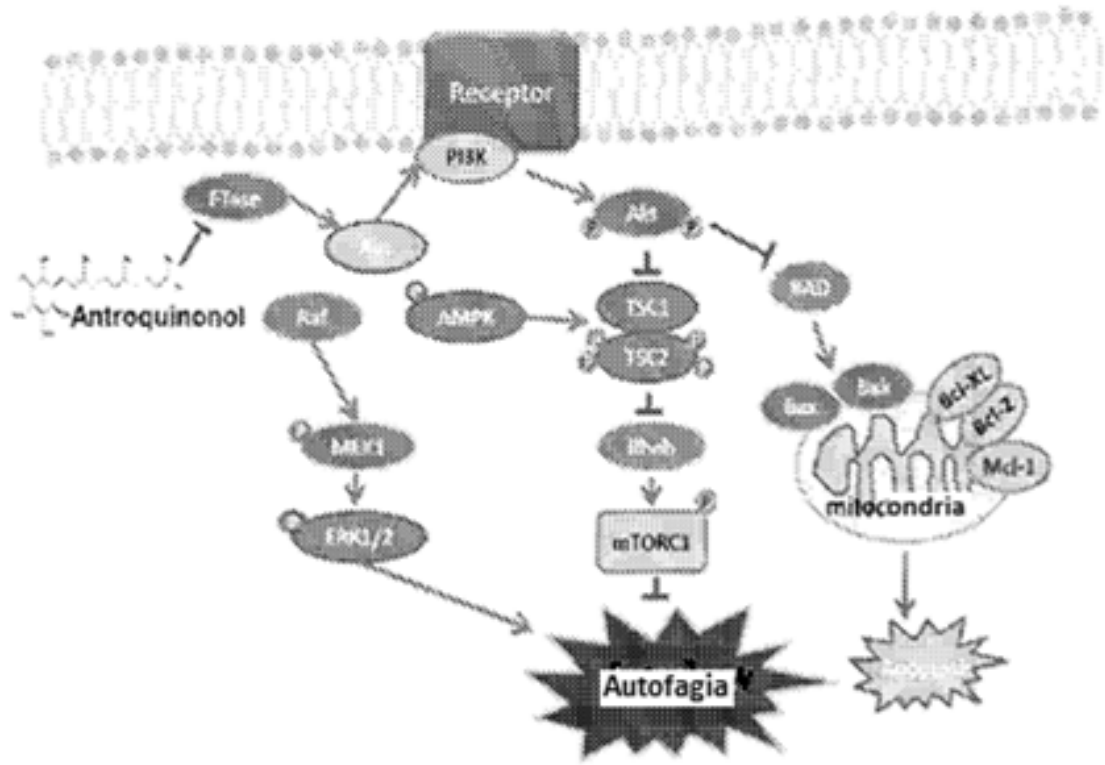


FIG. 8

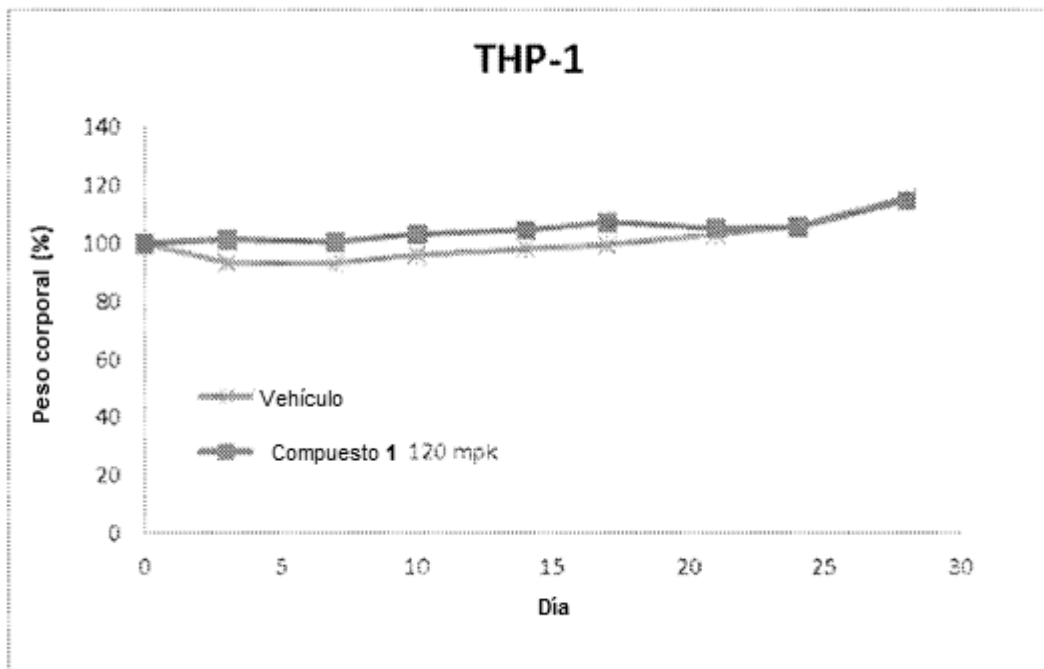




FIG. 9

THP-1

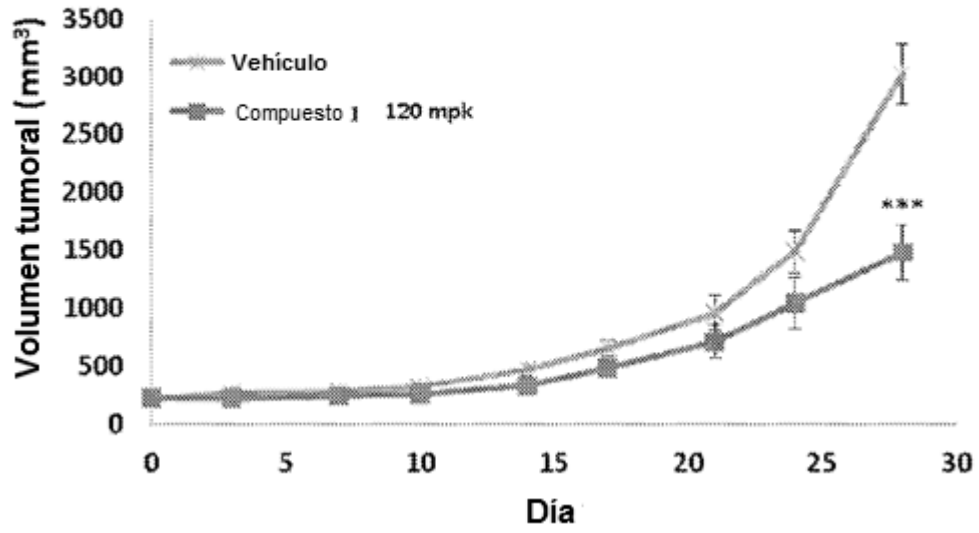


FIG. 10

