

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 768 981**

51 Int. Cl.:

A61K 45/06 (2006.01)

A61K 31/352 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.06.2016 PCT/EP2016/064159**

87 Fecha y número de publicación internacional: **27.04.2017 WO17067676**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.06.2016 E 16733901 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.12.2019 EP 3319638**

54 Título: **Composición que contiene cineol para el tratamiento de enfermedades tumorales y/o cancerígenas**

30 Prioridad:

23.10.2015 DE 102015013668

26.10.2015 DE 102015013725

12.11.2015 DE 102015119552

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

24.06.2020

73 Titular/es:

**MARIA CLEMENTINE MARTIN KLOSTERFRAU
VERTRIEBSGESELLSCHAFT MBH (100.0%)
Gereonsmühlengasse 1-11
50670 Köln , DE**

72 Inventor/es:

**UNKAUF, MARKUS;
WOLLENBERG, BARBARA y
PRIES, RALPH**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 768 981 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

Composición que contiene cineol para el tratamiento de enfermedades tumorales y/o cancerígenas

La presente invención se refiere al campo técnico (es decir, médico-terapéutico) del tratamiento de, en particular, enfermedades tumorales malignas o enfermedades de carcinoma del área de la cabeza y el cuello.

5 En particular, la presente invención se refiere a una composición que contiene cineol, en particular una composición farmacéutica que contiene cineol, que es adecuada para usar en el tratamiento profiláctico o terapéutico de enfermedades tumorales malignas o enfermedades de carcinoma del área de la cabeza y el cuello. A este respecto, la presente invención también se refiere al cineol como tal, que es adecuado para el uso en el contexto del
10 tratamiento profiláctico o terapéutico mencionado anteriormente. Por lo tanto, la presente invención también se refiere al uso de una composición que contiene cineol como principio activo farmacéutico para el tratamiento profiláctico o terapéutico de las enfermedades tumorales o de carcinoma en cuestión o para la preparación de un medicamento con el fin de un tratamiento profiláctico o terapéutico de las enfermedades subyacentes.

15 La presente invención también se refiere al uso de cineol como principio activo farmacéutico para el tratamiento profiláctico o terapéutico de las enfermedades en cuestión o para la preparación de un medicamento para el tratamiento profiláctico o terapéutico, en particular, de enfermedades tumorales malignas o de carcinomas del área de la cabeza y el cuello. En particular, la presente invención también se refiere a un medicamento como tal, así como también a una combinación de sustancias activas, en particular en forma de un kit (kit de partes), para el tratamiento profiláctico o terapéutico de las enfermedades en cuestión.

20 En el contexto de la presente invención, bajo enfermedades tumorales o enfermedades de carcinoma de la región de cabeza y cuello (también conocidas como sinónimo de carcinomas de cabeza y cuello) se entiende en general un grupo de tumores con pronóstico malo o malignos, en particular los que se originan en la región de cabeza y cuello o están localizados en esta área. En particular, la mayoría de los carcinomas o tumores de cabeza y cuello se desarrollan en la cavidad oral, laringe, faringe y en el área interior de la nariz o los senos paranasales. El abuso de nicotina en forma de humo de tabaco se considera una principal causa de los cánceres en el área de la cabeza y el
25 cuello. Otros tipos de consumo de tabaco, el consumo excesivo de alcohol, las infecciones víricas así como las infecciones por el VPH (virus del papiloma humano), una falta de higiene bucal y el contacto frecuente con sustancias nocivas o tóxicas como el asbesto, también aumentan el riesgo de desarrollar un tumor de cabeza y cuello. La probabilidad de desarrollar una enfermedad cancerígena puede aumentar aún más debido a un consumo excesivo de alcohol en combinación con el tabaquismo, ya que el alcohol generalmente sirve como disolvente para los agentes carcinógenos que se encuentran en el humo del cigarrillo y, por lo tanto, puede conducir a un mayor
30 contacto con las sustancias tóxicas subyacentes.

A este respecto, se puede entender que la expresión tumor de cabeza y cuello o enfermedad cancerígena de cabeza y cuello significa una gran cantidad de enfermedades cancerígenas que generalmente aparecen en el área de la cabeza y el cuello. En particular, los tumores de cabeza y cuello pueden afectar, por ejemplo, a la boca o la
35 cavidad oral, en este caso en particular el labio, la lengua, el suelo de la boca, las encías, el paladar y la glándula salival. El cáncer también puede afectar a la garganta, la laringe, la nariz interna, así como los senos paranasales y el cuello externo. El tipo de tumor en el que se basa el cáncer de cabeza y cuello depende en particular del tipo de tejido del que surge el tumor de cabeza y cuello. Los tumores de cabeza y cuello generalmente aparecen en forma de carcinomas que se desarrollan a partir de la membrana mucosa; sin embargo, los tumores también pueden presentarse en forma de linfomas, que se originan en el tejido linfático, y en forma de sarcomas, que se derivan del
40 tejido conectivo y de soporte.

En el caso de las enfermedades tumorales del área de la cabeza y el cuello se trata frecuentemente de los denominados carcinomas de células escamosas, que en este contexto también se conocen como carcinomas de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC). En particular, el carcinoma de células escamosas de cabeza y
45 cuello es uno de los tumores más comunes en todo el mundo. A este respecto, los carcinomas de células escamosas de cabeza y cuello representan una de las neoplasias sólidas usuales más comunes en todo el mundo, cuya aparición está relacionada con una exposición al humo de tabaco y el consumo de alcohol.

En particular, la mayoría de los tumores subyacentes, es decir, más del 90%, son los llamados carcinomas de células escamosas (*Epitelioma espinocelular*). En este caso se trata principalmente de tumores malignos que se originan en el epitelio de la piel y especialmente en las membranas mucosas, que se vuelven rugosas y a menudo se ulceran. Los carcinomas de células escamosas a menudo se derivan de la epidermis, membranas mucosas
50 soportes del epitelio escamosos o epitelios columnares metaplasados y representan una neoplasia maligna con células atípicas de tamaño desigual, especialmente dispuestas en hebras o nidos, que pueden estar conectadas por desmosomas.

55 Para obtener más detalles sobre el cuadro clínico del carcinoma de células escamosas, también se puede hacer referencia a Pschyrembel, Medizinisches Wörterbuch, 257ª edición, 1993, editorial Walter de Gruyter, palabra clave "carcinoma de células escamosas", así como en Roche Lexicon Medical, 3ª edición, 1993, editorial Urban & Schwarzenberg Verlag, palabra clave "carcinoma de células escamosas".

En Alemania, se estima que 50 de cada 100.000 personas desarrollan anualmente un tumor de cabeza y cuello, en donde con gran frecuencia se ve afectada la región de la cavidad oral y el área de la garganta. A este respecto, los tumores de cabeza y cuello en la cavidad oral y la garganta son el quinto cáncer más común en los hombres. El tumor de cabeza y cuello predomina después de los sesenta años; sin embargo, la incidencia de tumores de cabeza y cuello en personas más jóvenes aumenta constantemente, lo que se debe en parte al consumo temprano de nicotina y alcohol. En regiones específicas del mundo, los tumores en la zona de la cabeza y el cuello son particularmente comunes debido a hábitos comunes que son factores de riesgo, como el consumo de tabaco de mascar.

Los tumores malignos de los senos nasales y paranasales también representan más del 10% de todas las neoplasias malignas en el área de la cabeza y el cuello. Frecuentemente, se ve al menos afectado el seno maxilar. Los primeros síntomas pueden ser una obstrucción típicamente unilateral del paso de aire nasal y molestias por sinusitis o hemorragias nasales unilaterales repetidas. En un curso posterior, a veces aparecen hinchazones de la mejilla, el vestíbulo oral, los párpados y la frente.

En lo que respecta al pronóstico de enfermedades cancerígenas del área de la cabeza y el cuello, es relativamente bueno en los primeros estadios, mientras que las posibilidades de curación empeoran con el progreso de la enfermedad o dependiendo del estadio del tumor subyacente.

La mayoría de los tumores malignos en el área de la cabeza y el cuello solo se descubren en un estadio avanzado, lo que conduce a un empeoramiento significativo del pronóstico. Dependiendo de la ubicación del tumor, el tipo y el estadio, la terapia puede ser diferente o estar diferenciada. Al igual que con muchos otros tipos de cáncer, se pueden usar las formas de terapia convencionales, a saber, cirugía, uso de oncocidas (como, por ejemplo, en forma de una quimioterapia) y radioterapia, y también combinadas. En el caso de tumores de la cavidad oral y la faringe superior, una intervención quirúrgica, combinada con la resección tumoral, es el método de tratamiento primario, que generalmente se complementa con radiación y, si es necesario, quimioterapia, según el estadio del tumor.

Aunque se han realizado avances en la eficacia y la tolerabilidad en relación con el tratamiento de enfermedades tumorales o de carcinoma del área de la cabeza y el cuello, en general y en particular en el carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC), con respecto a los enfoques terapéuticos conocidos en la técnica anterior, las tasas de mortalidad siguen siendo altas, en particular debido a la invasión tumoral local, el desarrollo de metástasis y el fracaso de la quimioterapia y la radioterapia, y esto con muchos efectos secundarios o intolerancias de las formas de terapia conocidas en la técnica anterior. En particular, las altas tasas de mortalidad no han cambiado esencialmente en las últimas tres décadas.

Por lo tanto, también existe una gran necesidad en la técnica anterior de proporcionar enfoques terapéuticos nuevos e innovadores para el tratamiento de enfermedades tumorales o enfermedades de carcinoma del área de la cabeza y el cuello, especialmente porque los enfoques terapéuticos conocidos en la técnica anterior, en particular los que se basan en intervenciones quirúrgicas, quimioterapia y radioterapia, a veces están asociados con fuertes efectos secundarios.

De este modo, el documento FR 2 956 817 A comprende una composición que contiene al menos un componente de aceites esenciales de las plantas *Oregano compactum* o *Aniba rosaeodora*, para un uso terapéutico en la prevención o el tratamiento de queratosis en estadio de transformación, queratinocitos precancerosos (pre malignos) o cancerosos o carcinomas resultantes de la transformación de una queratosis.

Además, la publicación científica según T. Nishra et al., "*Composition and in vitro cytotoxic activities of essential oil of Hedychium spicatum from different geographical regions of western Himalaya by principal components analysis*", Natural Product Research, volumen 30, nº 10, 21 de julio de 2015, páginas 1224 a 1227, se refiere a composiciones y a estudios *in vitro* de la actividad citotóxica de aceites esenciales procedentes de *Hedychium spicatum* procedentes de diferentes regiones geográficas del Himalaya occidental, mediante el análisis de los componentes principales.

Finalmente, el documento WO 2014/141038 A2 se dirige a una administración de inhibidores de Wnt con fines terapéuticos y describe en este contexto un procedimiento para la observación de una expresión génica diferencial de biomarcadores para determinar la respuesta de un paciente frente a un inhibidor de Wnt.

Teniendo esto en cuenta, la presente invención se basa, por lo tanto, en el objeto de proporcionar un enfoque terapéutico eficaz que se asocia con efectos secundarios reducidos o se acompaña de una tolerancia mejorada para el tratamiento, en particular, de enfermedades tumorales malignas o enfermedades de carcinoma del área de la cabeza y el cuello, en donde las desventajas descritas anteriormente que se producen en relación con la técnica anterior, deben evitarse al menos parcialmente o al menos aliviarse parcialmente.

En particular, la presente invención se basa en el objeto de proporcionar una composición para uso en el tratamiento profiláctico o terapéutico de enfermedades tumorales o enfermedades de carcinoma de la región de cabeza y cuello, en particular carcinomas de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC), que con una buena tolerancia o menos efectos secundarios, tiene una eficacia terapéutica elevada y también es adecuada para una administración combinada o para una combinación con los enfoques de terapias conocidos en la técnica anterior, tales como

quimioterapia o similares, con el fin, en particular, de mejorar la eficacia de los enfoques de terapias conocidos en la técnica anterior.

5 Por lo tanto, el objeto en el que se basa la presente invención se trata, en particular, en poner a disposición un concepto de terapia novedoso para el tratamiento profiláctico o terapéutico de enfermedades tumorales o enfermedades de carcinoma del área de la cabeza y el cuello, en donde un concepto de terapia de ese tipo en comparación con los métodos terapéuticos convencionales está asociado con menos efectos secundarios y/o inconvenientes para los pacientes afectados y/o debe proporcionar una eficacia al menos comparable, preferiblemente incluso mejorada, especialmente en combinación con otras medidas de tratamiento.

10 Para solucionar el problema descrito anteriormente, la presente invención propone - de acuerdo con un primer aspecto de la presente invención - una composición, en particular una composición farmacéutica, para uso en el tratamiento profiláctico o terapéutico, en particular, de enfermedades tumorales malignas o enfermedades de carcinoma del área de la cabeza según la reivindicación 1; además, en particular, configuraciones ventajosas de la composición de acuerdo con la invención son objeto de las reivindicaciones dependientes relevantes.

15 Además, la presente invención se refiere, de acuerdo con un segundo aspecto de la presente invención - del mismo modo a un medicamento para el tratamiento profiláctico o terapéutico de enfermedades tumorales malignas o enfermedades de carcinoma del área de cabeza y cuello de acuerdo con la reivindicación independiente que se refiere al medicamento de acuerdo con la invención.

20 Adicionalmente, la presente invención se refiere, de acuerdo con un tercer aspecto de la presente invención - a la combinación de principios activos de acuerdo con la invención, en particular en forma de un kit (kit de partes), según la reivindicación independiente que se refiere a la combinación de principios activos como tal.

Se entiende en las siguientes realizaciones que las configuraciones, realizaciones, ventajas y similares, que con el fin de evitar repeticiones se indican a continuación solo para un aspecto de la invención, se consideran correspondientemente también en relación con los demás aspectos de la invención, sin que esto requiera una mención especial.

25 En todos los datos ponderales relativos, o bien porcentuales, relacionados con el peso, mencionados a continuación, en particular los datos sobre cantidades, también debe tenerse en cuenta que en el contexto de la presente invención, estos deben ser seleccionados por el experto en la materia de tal manera que éstos se complementen, o bien se añadan en la suma, siempre para dar 100 %, o bien 100 % en peso, con inclusión de todos los componentes, o bien todas las sustancias constitutivas; no obstante, esto es evidente para el experto en la materia.

30 Por lo demás, se aplica que la persona experta en la técnica, dependiendo de la aplicación o debido al caso individual, puede desviarse de los datos ponderales, cuantitativos y de intervalos que se indican a continuación, sin apartarse del contexto de la presente invención.

35 Además, se aplica que todos los datos de valores o parámetros o similares mencionados a continuación, se pueden calcular o determinar en principio utilizando métodos de determinación normalizados o estandarizados o indicados explícitamente o, en caso contrario, utilizando métodos de determinación o medición que son per se habituales para el experto en la materia en este campo.

Con eso en mente, la presente invención se explicará ahora más detalladamente.

40 Por lo tanto, un objeto de la presente invención - de acuerdo con un primer aspecto de la presente invención - es una composición, en particular una composición farmacéutica, para uso en el tratamiento profiláctico y/o terapéutico de enfermedades tumorales malignas y/o enfermedades de carcinoma del área de la cabeza y el cuello,

en donde las enfermedades tumorales y/o de carcinoma del área de la cabeza y el cuello se seleccionan a partir de carcinomas de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC),

en donde la composición contiene 1,8-cineol como único principio activo,

45 en donde el cineol tiene una pureza de al menos 95% en peso, basada en el cineol, y en donde el cineol está exento de otros terpenos.

De acuerdo con la invención, en el caso de la enfermedad subyacente se trata enfermedades tumorales o enfermedades de carcinoma del área de la cabeza y el cuello que están relacionadas con la denominada ruta de señalización de Wnt/ β -catenina o que en particular en relación con la inducción o progresión tumoral de la ruta de señalización de Wnt/ β -catenina están particularmente reguladas o influenciadas, como se detalla a continuación.

50 La presente invención está asociada con numerosas ventajas y características especiales, que se describen de manera no limitativa a continuación y que se deben considerar como una indicación de la patentabilidad.

Dentro del contexto de la presente invención, se puede poner a disposición por primera vez un concepto de terapia novedoso para el tratamiento profiláctico o terapéutico de carcinomas de células escamosas de cabeza y cuello

(HNSCC), con el cual las desventajas de la técnica anterior descritas anteriormente se pueden evitar, al menos en gran medida o al menos mitigar. En particular, el concepto de terapia de acuerdo con la invención está asociado con menos efectos secundarios y/o inconvenientes para los pacientes implicados, en comparación con los métodos de terapia convencionales, proporcionando una alta eficacia dentro del contexto de la presente invención. En particular, el concepto de terapia de acuerdo con la invención también es adecuado para una comedicación dirigida con enfoques terapéuticos conocidos, lo que puede hacer posible que aumente aún más la eficacia (total) o hace posible reducir la dosis de las sustancias activas que todavía se administran, como los oncocidas (por ejemplo, en forma de agentes quimioterapéuticos) o similares, en particular, acompañados de una reducción o disminución de los efectos secundarios.

Tal y como ha encontrado sorprendentemente el solicitante, se pueden lograr muy buenos resultados con el principio activo cineol, en particular 1,8-cineol, en el tratamiento de enfermedades tumorales del área de la cabeza y el cuello, en particular de carcinomas de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC), en donde el cineol como principio activo natural no tiene los efectos secundarios asociados con las sustancias activas usadas en la técnica anterior, tales como agentes quimioterapéuticos, que a veces son graves. El cineol se puede usar de este modo como un agente monoterapéutico o también en particular en el tratamiento de casos graves como parte de una comedicación, en donde mediante el uso conjunto o combinado de cineol, se aumenta la eficacia (total) o la dosis de las sustancias activas administradas en combinación se puede reducir (y esto con al menos la misma eficacia).

También debe tenerse en cuenta que el principio activo cineol se puede administrar tópicamente (por ejemplo, por vía intranasal y/o sistémicamente (por ejemplo, oralmente)) en el contexto de la presente invención, siendo particularmente importante para ello el perfil de actividad local del cineol. Por ello, en el caso de una aplicación tópica, el cineol se puede aplicar directamente sobre las membranas mucosas orales y/o nasales, por ejemplo, en el caso de enfermedades tumorales de la mucosa nasal, mientras que en el caso de un uso sistémico (por ejemplo, peroral), el perfil de actividad general del cineol está en primer plano.

Además, con el concepto de acuerdo con la invención también se pueden tratar en particular formas recurrentes de enfermedades tumorales del área de la cabeza y cuello, en particular carcinomas de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC). La tasa de recurrencia se puede reducir de este modo, particularmente con el tratamiento de afecciones postoperatorias.

Como también se explicará a continuación, con el concepto de terapia de acuerdo con la invención, también en conexión con la ruta de señalización de Wnt, en particular la ruta de señalización de Wnt/ β -catenina, también se pueden tratar formas relacionadas de enfermedades tumorales del área de la cabeza y el cuello, en particular carcinomas de células escamosas cabeza y cuello (HNSCC), que no siempre se pueden tratar de manera eficaz y satisfactoria con los conceptos de terapia convencionales de la técnica anterior o solo se pueden tratar aceptando unos efectos secundarios fuertes.

En general, la presente invención pone a disposición por lo tanto un concepto de terapia eficaz y utilizable de forma flexible que emplea un principio activo natural (a saber, cineol, en particular 1,8-cineol) con el que no se asocian efectos secundarios no deseables significativos. En particular, el concepto de terapia de acuerdo con la invención también se puede combinar de una manera eficiente y flexible con conceptos de terapia convencionales; por ejemplo, de este modo el concepto de terapia de acuerdo con la invención se puede usar en combinación con agentes quimioterapéuticos o similares y también después de una extirpación quirúrgica de tumores o carcinomas, en particular en combinación o como complemento de principios activos convencionales, para impedir la formación de una recurrencia, en particular con la condición de que su modo de acción se fortalezca o se reduzca su dosis (y por lo tanto también su perfil de efectos secundarios).

En el contexto de la presente invención, las enfermedades tumorales y/o enfermedades de carcinoma del área de cabeza y cuello se seleccionan a partir de carcinomas de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC). En otras palabras, de acuerdo con la invención, la enfermedad subyacente es un carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC).

Además, las enfermedades tumorales o las enfermedades de carcinoma del área de la cabeza y el cuello se pueden seleccionar a partir del grupo de enfermedades tumorales y/o enfermedades de carcinoma de la cavidad oral, la faringe, la nariz interna, los senos paranasales, la nasofaringe, la laringe, la hipofaringe, el oído, la piel facial, la piel del cuello y las glándulas salivares. De acuerdo con una realización preferida de la invención, las enfermedades tumorales o enfermedades de carcinoma del área de la cabeza y el cuello se seleccionan a partir del grupo de enfermedades tumorales o enfermedades de carcinoma de la cavidad oral, la faringe, la nariz interna, los senos paranasales y la nasofaringe.

En lo que respecta a las enfermedades tumorales subyacentes o enfermedades de carcinoma, estas se pueden seleccionar a partir del grupo de carcinomas orales, carcinomas orofaríngeos, carcinomas nasales, carcinomas nasofaríngeos, carcinomas hipofaríngeos, carcinomas laríngeos y carcinomas traqueales. En particular, las enfermedades tumorales o las enfermedades de carcinoma se pueden seleccionar a partir del grupo de carcinomas orales, carcinomas orofaríngeos, carcinomas nasales y carcinomas nasofaríngeos.

De acuerdo con la invención, las enfermedades mencionadas anteriormente también son formas de carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC).

En lo que respecta adicionalmente a la presente invención, la composición o el cineol de acuerdo con la invención se puede usar para un tratamiento profiláctico o terapéutico de formas de enfermedades tumorales o enfermedades de carcinoma de cabeza y cuello asociadas con la ruta de señalización de Wnt, en particular la ruta de transducción de señales de Wnt/ β -catenina, preferiblemente para el tratamiento profiláctico o terapéutico de formas inducidas y/o formas proliferadas a través de la ruta de señalización de Wnt, en particular la ruta de transducción de señales de Wnt/ β -catenina, de enfermedades tumorales y/o enfermedades de carcinoma del área de la cabeza y el cuello.

De acuerdo con la invención, la composición o el cineol se pueden usar igualmente para el tratamiento profiláctico o terapéutico de enfermedades tumorales o de carcinomas malignos del área de la cabeza y el cuello, preferiblemente carcinomas de cabeza y cuello, preferiblemente carcinomas de células escamosas, asociados con la ruta de señalización de Wnt, en particular la ruta de transducción de señales de Wnt/ β -catenina, o preferiblemente para el tratamiento profiláctico y/o terapéutico de enfermedades tumorales malignas o de carcinomas del área de la cabeza y cuello, inducidas y/o que proliferan a través de la ruta de señalización Wnt, en particular la ruta de transducción de señales de Wnt/ β -catenina, preferiblemente carcinomas de cabeza y cuello, preferiblemente carcinomas de células escamosas.

Tales formas o afecciones de carcinomas de cabeza y cuello, preferiblemente en forma de carcinomas de células escamosas, hasta ahora no se han podido tratar o tratar satisfactoriamente con conceptos de terapia convencionales.

La llamada ruta de señalización de Wnt, en particular la ruta de transducción de señales de Wnt/ β -catenina, es una de las muchas rutas de transducción de señales mediante la cual las células pueden reaccionar a señales externas. Esta ruta de señalización lleva el nombre de su ligando "Wnt", una proteína de la señalización que, como mediador local, tiene un papel importante en el desarrollo de diversas células animales.

El propio acrónimo "Wnt" está históricamente justificado y consiste en los componentes "Wg" por un lado e "Int-1" por el otro: la parte del acrónimo "W" proviene de la abreviatura "Wg", que a su vez significa la palabra inglesa "wingless" (sin alas) y representa el factor de crecimiento de la familia Wnt que se descubrió primero (si el gen Wg está mutado, se produce en la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster* una variante sin alas). La parte del acrónimo "nt" proviene del gen Int, que cuando se activa promueve o desencadena el desarrollo del cáncer de mama en el ratón. Se han identificado un total de 19 genes Wnt diferentes.

Numerosas proteínas están involucradas en la transducción de señales de la ruta de señalización de Wnt, sin desear limitarse a esta teoría. Es esencial para el desarrollo embrionario normal (embriogénesis) y también se observa en ciertos tipos de cáncer en humanos. Según el estado actual del conocimiento, la proteína señal Wnt se une al receptor "*Frizzled*" (junto con el correceptor "LRP" [*proteína relacionada con el receptor de lipoproteína de baja densidad*]), el cual activa la proteína "*Dishevelled* (DVL)", que a su vez tiene un efecto inhibitorio sobre un complejo proteico (que consiste en GSK-3 [una proteína cinasa], la proteína supresora de tumores APC y la proteína axina-1), que normalmente degrada la β -catenina. Ya que se inhibe la degradación de la β -catenina, esta se acumula en el citoplasma y en el núcleo celular. En el núcleo celular, la β -catenina forma un complejo proteico con TCF/LEF y, por lo tanto, activa genes diana específicos. El gen APC es un gen supresor de tumores que primero se ha encontrado mutado en un cierto tipo de cáncer intestinal, pero este gen también se puede mutar a otros tipos de cáncer; el gen APC codifica la proteína APC, que está involucrada en la degradación de la β -catenina en la ruta de señalización de Wnt.

La ruta de señalización de Wnt es importante en muchos procesos en el contexto del desarrollo embrionario (embriogénesis), como por ejemplo en la formación del eje del cuerpo y la formación de sistemas de órganos. Por el contrario, está principalmente inactiva en las células adultas, pero puede activarse nuevamente en las células tumorales.

En las células en las que la ruta de señalización de Wnt está inactiva, la β -catenina está presente, del mismo modo sin querer limitarse a esta teoría, unida en un complejo que conduce a que la β -catenina se descomponga constantemente; de esa manera, se impide que la β -catenina active la transcripción de ciertos genes. Este complejo, que también se llama *complejo de destrucción*, consta de varias proteínas, las más importantes de las cuales son la proteína cinasa GSK-3 y la proteína supresora de tumores APC. Si la β -catenina está presente en ese complejo, se puede unir y ubiquitinar con β -TrCP; esta ubiquitinación conduce a la degradación de la β -catenina en el proteasoma. Pero si "Wnt" se une a su receptor "*Frizzled*" y al correceptor "LRP", se activa la proteína "DVL", la cual inhibe el *complejo de destrucción*; la β -catenina se libera y ya no se puede descomponer, y se acumula y también llega al núcleo celular, en donde se une con otras proteínas a un factor de transcripción, que se activa de esta manera, el cual a su vez da lugar a la transcripción de diferentes genes (p. ej., ciclina D1 y MYC).

A este respecto, el solicitante ha encontrado, de una manera completamente sorprendente, que las formas o desarrollos relevantes de enfermedad en los que se basa la presente invención, están relacionados con la ruta de señalización de Wnt en cuestión, en particular la ruta de transducción de señales de Wnt/ β -catenina, en particular en

la medida en que las formas relevantes de las enfermedades están relacionadas con una activación de la ruta de señalización en cuestión y se pueden inducir de ese modo, en particular en la medida en que el curso de las enfermedades se acelera o se favorece de una manera que sea desventajosa para el paciente.

5 En particular, el solicitante ha encontrado de forma muy sorprendente que el cineol, en particular el 1,8-cineol, utilizado como sustancia activa en el contexto de la presente invención, es capaz de influir y en particular inhibir la ruta de señalización de Wnt, en particular la ruta de transducción de señales de Wnt/ β -catenina, lo que se asocia con una proliferación celular o una promoción del tumor reducida con respecto a las formas relevantes de las enfermedades en cuestión y, por lo tanto, con un pronóstico más favorable para los pacientes en cuestión.

10 Con otras palabras, se ha encontrado en el contexto de la presente invención por primera vez y de una manera completamente sorprendente, que el cineol, en particular el 1,8-cineol, actúa como un inhibidor o supresor de la ruta de señalización de Wnt, en particular la ruta de transducción de señales de Wnt/ β -catenina, lo que conduce a una eficacia de la actividad farmacológica correspondiente con respecto a las enfermedades tumorales subyacentes o las enfermedades de carcinoma del área de cabeza y cuello, en particular en forma de carcinomas de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC).

15 En relación con esto, las investigaciones del solicitante han mostrado que el cineol, en particular el 1,8-cineol, conduce a una inhibición de la ruta de señalización de Wnt/ β -catenina - sin querer limitarse a esta teoría - en donde en particular en presencia de cineol se produce una disminución de la β -catenina activa, que es una proteína activadora transcripcional central de la ruta de señalización subyacente. En este contexto - igualmente sin desear restringirse a esta teoría - el cineol o el 1,8-cineol conduce a un nivel o contenido más bajo de la proteína cinasa
20 GSK-3 fosforilada, como se define a continuación, lo que conduce a una mayor actividad de GSK-3 y, por lo tanto, conduce a una mayor degradación de la β -catenina, acompañada de una inhibición o inactivación de la ruta de transducción de señales de Wnt/ β -catenina subyacente.

25 En el caso de GSK-3 - sin querer limitarse a esta teoría - se trata de una proteína cinasa constitutivamente activa que se inhibe en particular mediante la fosforilación de la serina-9 (GSK-3 α) o la serina-21 (GSK-3 β). La reducción de la fosforilación de GSK-3 en esos sitios, causada por el cineol, conduce a una activación de GSK-3 como proteína cinasa constitutivamente activa dentro del contexto de la cascada de señales en la que se basa la ruta de señalización de Wnt/ β -catenina, lo que a su vez conduce a un aumento de la fosforilación y, por lo tanto, a una inactivación o degradación de la β -catenina.

30 Como resultado, la inactivación de la ruta de señalización de Wnt/ β -catenina inducida o causada por cineol, en relación con las enfermedades a tratar (es decir, en particular enfermedades tumorales o carcinomas malignos del área de la cabeza y el cuello, preferiblemente carcinomas de células escamosas de cabeza y cuello), conduce a una promoción tumoral reducida o a una proliferación celular reducida y, por tanto, a una supresión tumoral o debilitamiento o incluso curación de la enfermedad, o a una mejora del estado de salud. A este respecto, también se puede hacer referencia a las siguientes realizaciones.

35 Además, el uso de cineol de acuerdo con la invención - del mismo modo sin desear limitarse a esta teoría - también conduce a una localización endolisosómica reducida de GSK-3, lo que respalda su inhibición reducida como resultado del tratamiento con cineol y que a su vez va acompañada de una mayor inactivación de la β -catenina.

40 Con respecto a la ruta de señalización de Wnt/ β -catenina subyacente, el cineol utilizado de acuerdo con la invención conduce, por lo tanto, a una inhibición correspondiente de la cascada de señalización subyacente de varias maneras, junto con la eficacia mencionada anteriormente en relación con el tumor o las enfermedades tumorales cancerosas a tratar.

45 El solicitante también ha encontrado de forma totalmente sorprendente que, con respecto a las enfermedades subyacentes - igualmente sin querer limitarse a esta teoría - el uso de cineol conduce a una reducción de la actividad o una reducción de la expresión de al menos un gen, en particular relacionado con la ruta de señalización de la Wnt/ β -catenina, preferiblemente el gen Wnt (sinónimo también del denominado gen WNT), en particular el gen Wnt11 (sinónimo también del denominado gen WNT11).

50 En este contexto, el cineol actúa en particular como un regulador, preferiblemente un inhibidor y/o supresor, para los genes o productos génicos en cuestión, por ejemplo, en forma de las proteínas correspondientes, en particular como regulador de al menos un gen Wnt y/o una proteína Wnt (sinónimo también de la denominada proteína WNT), en particular el gen Wnt11 y/o la proteína Wnt11 (sinónimo también de la denominada proteína WNT11). En general, la regulación, en particular la inhibición y/o la supresión, puede tener lugar a nivel de gen, transcripción, traducción y/o proteína.

55 A este respecto, el solicitante también ha descubierto que una actividad reducida o una expresión reducida de Wnt11 conduce en particular a una progresión celular reducida con respecto a las enfermedades subyacentes (es decir, enfermedades tumorales o carcinomas malignos del área de la cabeza y el cuello, preferiblemente carcinomas de la cabeza y cuello, con preferencia carcinomas de células escamosas).

Resumiendo, se ha encontrado por primera vez de acuerdo con la invención que el cineol, en particular el 1,8-cineol,

es capaz, en particular, de inhibir la actividad de la ruta de transducción de señales de Wnt/ β -catenina con relevancia farmacológica para las enfermedades tumorales subyacentes o enfermedades de carcinomas del área de la cabeza y el cuello, preferiblemente carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC), lo que conduce a una progresión celular reducida de las enfermedades tumorales o de carcinoma.

- 5 De acuerdo con la invención, se muestra por primera vez un nuevo efecto farmacológico del principio activo natural cineol. El efecto activo encontrado para cineol y la eficacia asociada para las enfermedades subyacentes, se muestran de manera impresionante en las investigaciones llevadas a cabo por el solicitante, como se explicará con detalle a continuación en el contexto de las realizaciones ejemplares.

10 En lo que respecta adicionalmente a la presente invención, la composición de acuerdo con la invención o el cineol también se pueden usar para un tratamiento profiláctico o terapéutico de afecciones postoperatorias. Por ejemplo, la composición o el cineol se pueden usar después de la resección de un tumor o la extirpación quirúrgica de un tumor, en particular en el contexto de evitar o reducir la recurrencia del tumor. De acuerdo con la invención, el uso de cineol, en particular 1,8-cineol, reduce o minimiza eficazmente la formación de recurrencias en el contexto del concepto de terapia de acuerdo con la invención.

15 Por lo tanto, la composición de acuerdo con la invención se puede usar para el tratamiento profiláctico o terapéutico de enfermedades tumorales o enfermedades de carcinoma del área de la cabeza y el cuello después de una extracción quirúrgica previa de tumores o después de una resección tumoral previa, en particular como se ha mencionado anteriormente.

20 En el contexto de la presente invención, está previsto que la composición de acuerdo con la invención contiene cineol como una sustancia pura, es decir, exenta de otros terpenos. En este contexto, está previsto de acuerdo con la invención que el cineol se emplee con una pureza de al menos 95% en peso, en particular al menos 96% en peso, preferiblemente al menos 97% en peso, particularmente preferible al menos 98% en peso, muy particularmente preferible se usa al menos 99% en peso, todavía más preferiblemente al menos 99,5%, basada en el cineol. Como resultado, se logra una eficacia particularmente alta con una mejora adicional en la tolerancia.

25 De acuerdo con la invención, por lo tanto, se prevé que el cineol esté presente o se use como una sustancia pura. De acuerdo con la invención, el cineol está exento de otros terpenos o no contiene otros terpenos.

30 En particular, el cineol puede estar presente como 1,8-cineol. Esto se debe a que, basándose en el uso de un principio activo especial en forma de 1,8-cineol, se puede lograr o ajustar una eficacia o actividad farmacológica particularmente buena en relación con la composición de acuerdo con la invención en el contexto de la presente invención.

Con respecto al principio activo natural cineol usado en el contexto de la presente invención, en particular 1,8-cineol, se debe llevar a cabo lo siguiente a este respecto:

35 1,8-cineol pertenece a los monoterpenos epoxi bicíclicos, en concreto los óxidos de limoneno. Denominaciones sinónimas de 1,8-cineol con la fórmula química $C_{10}H_{18}O$ son eucaliptol, limoneno-1,8-óxido, 1,8-epoxi-p-mentano o 1,3,3-trimetil-2-oxabicyclo[2.2.2]octano. Se trata de un líquido incoloro con un olor de tipo picante a alcanfor, con un punto de fusión de +1,5 °C y un punto de ebullición de 176 a 177 °C, que es insoluble en agua, pero miscible con la mayoría de los disolventes orgánicos. En la naturaleza, el 1,8-cineol se presenta como componente principal del aceite de eucalipto (el aceite de eucalipto contiene hasta un 85% en peso de 1,8-cineol), pero también se presenta en otras plantas, por ejemplo, en la menta, la salvia cicatrizante, el tomillo, la albahaca y en el árbol del té. Además, el 1,8-cineol está contenido, por ejemplo, en aceite de niaouli, junípero, piper, cannabis, cajeput, salvia, aceite de mirto y otros aceites esenciales. El 1,8-cineol técnico, que generalmente tiene una pureza de 99,6 hasta el 99,8%, generalmente se obtiene mediante una destilación fraccionada del aceite de eucalipto. En la técnica anterior, el 1,8-cineol se usa en particular como expectorante para catarrros bronquiales y otras enfermedades respiratorias, principalmente en medicina veterinaria, pero también como agente aromatizante en la industria del perfume.

45 Además, el 1,8-cineol se usa en odontología en la revisión de rellenos radiculares.

Desde el punto de vista farmacológico, el 1,8-cineol tiene un efecto expectorante y bactericida en las vías respiratorias superiores e inferiores, especialmente en los pulmones y los senos paranasales. También inhibe ciertos neurotransmisores, que por ejemplo, son responsables del estrechamiento de los bronquios (en enfermedades pulmonares obstructivas crónicas y asma bronquial, la administración de 1,8-cineol puro puede mejorar la función pulmonar). Debido a sus efectos similares a los corticosteroides, el cineol se puede usar como un sustituto o en una comedición con corticosteroides. Como se explica a continuación, el 1,8-cineol se puede emplear, en principio, por vía tópica, por ejemplo, (intra)nasal y/o inhalativa, o también de forma sistémica, en particular por vía oral (por ejemplo, en forma de cápsulas).

55 Como principio activo, el 1,8-cineol también tiene efectos expectorantes y antiinflamatorios. Cuando se usa sistémicamente, el 1,8-cineol se absorbe fácilmente y llega el efecto a través del torrente sanguíneo a los órganos respiratorios. De esta manera, el 1,8-cineol puede, por ejemplo, diluir secreciones inflamatorias y el moco viscoso en las vías respiratorias y contrarrestar los procesos inflamatorios en el tracto respiratorio. En el área de las vías respiratorias superiores, desaparece el obstáculo de la respiración nasal con secreción nasal y el sopor de la cabeza.

Para obtener más detalles sobre el principio activo 1,8-cineol, se puede hacer referencia, por ejemplo, a Römpp Chemielexikon, Georg Thieme Verlag, Stuttgart/Nueva York, décima edición, volumen 1, 1996, página 752, palabra clave: "cineol", así como las publicaciones a las que se hace referencia allí.

5 A través del uso preferido de cineol como sustancia pura de acuerdo con la invención, en particular en forma de 1,8-cineol, se asegura un perfil de actividad definido o controlable. En particular, como consecuencia de la ausencia de más terpenos, se evitan interacciones y efectos secundarios no deseables o impredecibles.

10 De acuerdo con la invención, se puede prever igualmente que el cineol esté presente en forma rodeada por liposomas o envasado liposomal. De esta manera, en particular, se consigue una solubilidad o emulsionabilidad mejorada del cineol, con una buena estabilización simultánea del cineol en la composición y una buena biodisponibilidad.

15 De acuerdo con la invención, está previsto que la composición de acuerdo con la invención contenga cineol, en particular en forma de 1,8-cineol, como único principio activo, en particular como único principio activo farmacéutico. Asimismo, en el contexto de la presente invención, el cineol, en particular en forma de 1,8-cineol, se usa como único principio activo, en particular como único principio activo farmacéutico. Esto asegura un perfil de actividad particularmente definido, además de lo cual se evitan interacciones no deseadas con otras sustancias activas, lo que también beneficia la tolerancia de la composición de acuerdo con la invención.

La composición puede contener el cineol en cantidades eficaces, en particular farmacéuticamente eficaces. De este modo se asegura en particular los efectos activos especificados de acuerdo con la invención.

20 A este respecto, la cantidad de cineol en la composición que contiene cineol de acuerdo con la presente invención, en particular dependiendo de la forma de terapia (por ejemplo, tópica o sistémica) y la gravedad y la naturaleza de la enfermedad que se va a tratar, se puede variar o ajustar dentro de un amplio intervalo. En particular, puede estar previsto que la composición de cineol contenga, basándose en la composición, cantidades relativas en el intervalo de 0,0001 a 80% en peso, en particular de 0,001 a 75% en peso, preferible de 0,005 a 70% en peso, preferible de 0,01 a 60% en peso, particularmente preferible de 0,05 a 55% en peso, muy particularmente preferible de 0,1 a 50% en peso. Esto asegura de este modo una buena eficacia por un lado y una buena tolerancia por el otro. Sin embargo, puede ser necesario en casos individuales o relacionados con la aplicación, desviarse de los valores antes mencionados sin abandonar el contexto de la presente invención. Esto queda a discreción de la persona experta.

30 En particular, puede estar previsto de acuerdo con la invención, cuando la composición de acuerdo con la invención, basándose en la composición, contiene cineol en cantidades relativas de al menos 0,0001% en peso, en particular al menos 0,001% en peso, preferiblemente de al menos 0,005% en peso, preferiblemente de al menos 0,01% en peso, particularmente preferible de al menos 0,05% en peso, muy particularmente preferible de al menos 0,1% en peso.

35 Además, puede estar previsto de acuerdo con la invención, en particular si la composición de acuerdo con la invención, basándose en la composición, contiene cineol en cantidades relativas de como máximo 80% en peso, en particular como máximo 75% en peso, preferiblemente como máximo 70% en peso como máximo 60% en peso, particularmente preferible como máximo 55% en peso, muy particularmente preferible como máximo 50% en peso.

De acuerdo con una realización adicional de la presente invención, también puede estar previsto que la composición contenga cineol junto con al menos un vehículo (excipiente) fisiológicamente aceptable, o que el cineol se use junto con al menos un vehículo (excipiente) fisiológicamente aceptable.

40 En este contexto, puede estar previsto de acuerdo con la invención que el vehículo (excipiente) sea miscible o soluble en 1,8-cineol o que el vehículo (excipiente) esté en estado de agregación líquido o sólido a 20°C y a presión atmosférica.

45 Según una realización preferida de acuerdo con la invención, el vehículo o el excipiente, en particular con respecto a una forma de aplicación sistémica, se puede seleccionar a partir del grupo de aceites grasos, preferiblemente triglicéridos, particularmente preferible triglicéridos de cadena media (*Medium Chain Triglycerides*, MCT), muy particularmente preferible triglicéridos con ésteres de ácidos grasos C₈-C₁₂.

50 El término aceites, tal y como se usa de acuerdo con la invención para los vehículos o excipientes anteriores, es una denominación colectiva para líquidos que no se pueden mezclar con agua. La expresión aceites grasos, tal y como se usa de acuerdo con la invención en este contexto, se refiere en particular a grasas, es decir, mezclas de triglicéridos de ácidos grasos que son líquidos a temperatura ambiente (en particular 20°C) y a presión atmosférica; en particular, esta expresión indica ésteres del alcohol glicerol trihidroxilado (propano-1,2,3-triol) con tres ácidos monocarboxílicos alifáticos, en su mayoría diferentes, mayormente iguales y no ramificados, los llamados ácidos grasos. Los compuestos de este tipo también se denominan triglicéridos (según la recomendación de la IUPAC: triacilgliceroles). Los triglicéridos, también conocidos como sinónimos de triésteres de glicerol, son también ésteres triples del alcohol trihidroxilado glicerol con tres moléculas de ácido, el prefijo "tri" se refiere a tres residuos de ácido acílico esterificados con glicerol.

Particularmente, los triglicéridos de cadena media, tal y como se usan preferiblemente de acuerdo con la invención

5 como vehículos o excipientes para el principio activo 1,8-cineol, son en particular ésteres de glicerol neutro semisintéticos de ácidos monocarboxílicos saturados, generalmente no ramificados, de longitud de cadena media (es decir, C₆-C₁₂). En particular, la expresión triglicéridos de cadena media indica mezclas de triglicéridos de ácidos grasos saturados, principalmente ácido caprílico (ácido octanoico) y ácido cáprico (ácido decanoico). Los triglicéridos de cadena media generalmente pueden estar preparados a base de aceite, que se extrae a partir de la parte sólida y seca del endospermo de *Cocos nucifera* L. y/o a partir del endospermo seco de *Elaeis guineenses* Jacq. Para más detalles sobre la expresión triglicéridos de cadena media, se puede hacer referencia, por ejemplo, a la Monographie Ph. Eur. 6ª edición, Grundwerk 2008, páginas 4224 a 4226, así como al Journal of Nutritional Science, volumen 13, número 1/2, 1973, páginas 6 y siguientes, D. Sailer et al. "*Mittelkettige Triglyceride - Línische Physiologie und Anwendung*").

En general, puede estar previsto de acuerdo con la invención que la composición de acuerdo con la invención se aplique por vía tópica o sistémicamente o que la composición se prepare para una aplicación tópica o sistémica.

En particular, el cineol puede aplicarse tópica o sistémicamente, o el cineol se puede preparar para una aplicación tópica o sistémica.

15 En particular, la composición o el cineol se pueden aplicar tópicamente, en particular por vía intranasal o mediante inhalación. En particular, la composición o el cineol se pueden preparar para una aplicación tópica, en particular intranasal o inhalatoria. A este respecto, la composición o el cineol se pueden aplicar en particular en forma de una forma de administración para administración intranasal. Asimismo, la composición o el cineol se pueden preparar en una forma de administración para administrar por vía intranasal. En particular, la composición o el cineol en este contexto se pueden aplicar en forma de aerosoles nasales, gotas nasales, geles nasales, ungüentos nasales, lavados nasales, cremas nasales, inhalantes o similares, preferiblemente aerosoles nasales. Asimismo, la composición a este respecto o el cineol a este respecto se pueden preparar en forma de aerosoles nasales, gotas nasales, geles nasales, ungüentos nasales, lavados nasales, cremas nasales, inhalantes o similares, preferiblemente aerosoles nasales. Se puede considerar una aplicación intranasal, por ejemplo, en el caso de enfermedades tumorales correspondientes de la nariz interna, seno paranasal o nasofaringe, en donde la forma de aplicación en cuestión no se limita a las indicaciones mencionadas anteriormente. El experto en la materia en cualquier momento está en condiciones de seleccionar o coordinar de forma especial la forma apropiada de aplicación correspondiente, considerando el contexto de la enfermedad cancerígena subyacente.

30 De acuerdo con una realización o una variante adicional de la presente invención, también puede estar previsto que la composición o el cineol se aplique de forma sistémica, en particular peroral o parenteral (por ejemplo, intravenosa, intraarterial, intramuscular, subcutánea, etc., por ejemplo, como una forma de dosificación parenteral, tal como inyección, infusión, etc.), preferiblemente por vía oral. En particular, la composición o el cineol se pueden preparar para una aplicación sistémica, en particular peroral o parenteral, preferiblemente peroral.

35 A este respecto, la composición o el cineol se pueden aplicar como una forma de administración para administrar por vía oral o parenteral, preferiblemente por vía oral. Asimismo, la composición o el cineol a este respecto se pueden preparar como una forma de dosificación para administrar por vía oral o parenteral, preferiblemente por vía oral.

40 Además, la composición o el cineol se pueden aplicar como una forma de dosificación sistémica, resistente al jugo gástrico pero soluble en el intestino delgado, preferiblemente una cápsula, gragea, píldora, comprimido o similar. A este respecto, la composición o el cineol se pueden preparar igualmente como una forma de dosificación sistémica resistente al jugo gástrico pero soluble en el intestino delgado, preferiblemente una cápsula, gragea, píldora, comprimido o similar.

45 Una aplicación peroral se puede considerar, por ejemplo, con respecto al tratamiento de enfermedades tumorales de la cavidad oral, faringe, laringe, hipofaringe y similares. También a este respecto, el experto en la materia puede seleccionar o adaptar específicamente en cualquier momento la forma de aplicación correspondiente en el contexto de la indicación subyacente.

50 En lo que se refiere a la dosificación o aplicación sistémica de la composición de acuerdo con la invención, se puede lograr una eficacia total o sistémica del cineol a este respecto, lo que puede ser igualmente una ventaja terapéutica. En el contexto de la aplicación sistémica utilizando formas de dosificación resistentes al jugo gástrico, solubles en el intestino delgado, en particular se puede lograr que el principio activo en forma de cineol en una aplicación sistémica, se libere solo realmente en el sitio de absorción, es decir el intestino delgado. La puesta a disposición de formas de dosificación apropiadas o formas de aplicación con recubrimiento resistente al jugo gástrico que es soluble en el intestino delgado, es bien conocida por el experto en la materia como tal, de modo que no se requieren realizaciones adicionales a este respecto.

55 En particular, dependiendo del tipo de dosificación (es decir, sistémica y/o tópica), la dosis diaria de cineol aplicado puede variar ampliamente. En lo que respecta a la composición de acuerdo con la invención, se puede administrar el cineol con una dosis diaria en el intervalo de 0,1 a 5.000 mg/día, en particular en el intervalo de 1 a 3.000 mg/día, preferiblemente en el intervalo de 5 a 2.500 mg/día, con preferencia en el intervalo de 10 a 2.000 mg/día, particularmente preferible en el intervalo de 50 a 1.500 mg/día. En particular, la composición o el cineol que se va a

administrar se puede preparar con una dosis diaria en el intervalo de 0,1 a 5.000 mg/día, en particular en el intervalo de 1 a 3.000 mg/día, preferiblemente en el intervalo de 5 a 2.500 mg/día, preferiblemente en el intervalo de 10 a 2.000 mg/día, particularmente preferible en el intervalo de 50 a 1.500 mg/día.

5 En particular, el cineol se puede administrar sistémicamente con una dosis diaria en el intervalo de 10 a 5.000 mg/día, en particular en el intervalo de 50 a 3.000 mg/día, preferiblemente en el intervalo de 100 a 2.500 mg/día, preferiblemente en el intervalo de 150 a 2.000 mg/día, particularmente preferible en el intervalo de 200 a 1.500 mg/día. A este respecto, la composición o el cineol se pueden preparar con una dosis diaria en el intervalo de 10 a 5.000 mg/día, en particular en el intervalo de 50 a 3.000 mg/día, preferiblemente en el intervalo de 100 a 2.500 mg/día, con preferencia en el intervalo de 150 a 2.000 mg/día, particularmente preferible en el intervalo de 200 a 1.500 mg/día.

10 Además, el cineol se puede administrar tópicamente con una dosis diaria en el intervalo de 0,1 a 2.000 mg/día, en particular en el intervalo de 0,5 a 1.500 mg/día, preferiblemente en el intervalo de 1 a 1.000 mg/día, preferiblemente en el intervalo de 2 a 1.500 mg/día, particularmente preferible en el intervalo de 5 a 1.000 mg/día. A este respecto, la composición o el cineol se pueden administrar con una dosis diaria en el intervalo de 0,1 a 2.000 mg/día, en particular en el intervalo de 0,5 a 1.500 mg/día, preferiblemente en el intervalo de 1 a 1.000 mg/día, con preferencia en el intervalo de 2 a 1.500 mg/día, particularmente preferible en el intervalo de 5 a 1.000 mg/día.

15 Con respecto a las dosis diarias que se van a seleccionar de acuerdo con la invención, en cualquier momento el experto en la materia puede seleccionar los valores específicos a este respecto, en particular con respecto a la indicación o la administración subyacente, y afinarlos aún más.

20 De acuerdo con la invención, también puede estar previsto que la composición también contenga además al menos un principio adicional, en particular al menos un excipiente o aditivo. En particular, el cineol se puede usar con al menos un principio adicional, en particular al menos un excipiente o aditivo.

25 En este contexto, el al menos un principio adicional, en particular un excipiente y/o aditivo, se puede seleccionar a partir del grupo de excipientes tecnológicos, estabilizadores, emulsionantes, antioxidantes, humectantes, espesantes, desinfectantes, reguladores del pH, sustancias tamponadoras del pH, conservantes, antisépticos, colorantes, sustancias aromatizantes, sustancias aromáticas, fragancias, extendedores, aglutinantes, agentes humectantes, vitaminas, oligoelementos, minerales, micronutrientes o aceites esenciales y sus combinaciones. En lo que respecta a la presente invención, puede estar previsto que la composición o el cineol se emplee preferiblemente en combinación con oncocidas, en particular seleccionados a partir del grupo de agentes antitumorales, agentes quimioterapéuticos y citostáticos, o adicionalmente, preferiblemente en combinación con radioterapia.

30 Del mismo modo, puede estar previsto de acuerdo con la invención que la composición o el cineol se usen como un agente terapéutico complementario (coterapéutico), preferiblemente como un agente terapéutico en combinación con oncocidas, en particular seleccionados a partir del grupo de agentes antitumorales, agentes quimioterapéuticos y citostáticos, y/o con radioterapia. Como resultado, se puede mejorar la efectividad del oncocida o de la radioterapia o se pueden reducir las dosis correspondientes.

35 Además, puede estar previsto de acuerdo con la invención que la composición o el cineol, en particular en coterapia o en combinación con oncocidas, en particular seleccionados a partir del grupo de agentes antitumorales, quimioterapéuticos y citostáticos, y/o con radioterapia, se empleen para reducir la necesidad o para reemplazar oncocidas, particularmente seleccionados a partir del grupo de agentes antitumorales, agentes quimioterapéuticos y citostáticos, y/o una radioterapia, en el tratamiento profiláctico y/o terapéutico de enfermedades tumorales y/o enfermedades de carcinoma del área de la cabeza y el cuello.

40 De acuerdo con la invención, es igualmente posible que la composición o el cineol, en particular en coterapia o en combinación con oncocidas, en particular seleccionados a partir del grupo de agentes antitumorales, agentes quimioterapéuticos y citostáticos, y/o con radioterapia, se empleen para aumentar la eficacia y/o reducir la dosis de oncocidas, en particular seleccionados a partir del grupo de agentes antitumorales, agentes quimioterapéuticos y citostáticos, y/o una radioterapia en el tratamiento profiláctico y/o terapéutico de enfermedades tumorales y/o enfermedades de carcinoma del área de la cabeza y el cuello.

45 De acuerdo con otra realización según de la invención, también puede estar previsto que la composición o el cineol, en particular en coterapia o en combinación con oncocidas, en particular seleccionados a partir del grupo de agentes antitumorales, agentes quimioterapéuticos y citostáticos, y/o con radioterapia, se empleen para reducir o evitar los efectos secundarios de oncocidas, especialmente los seleccionados a partir del grupo de agentes antitumorales, agentes quimioterapéuticos y citostáticos, y/o una radioterapia en el tratamiento profiláctico y/o terapéutico de enfermedades tumorales y/o enfermedades de carcinoma del área de la cabeza y el cuello.

50 De acuerdo con la invención, también puede estar previsto que la composición o el cineol no se emplee en particular como complemento, especialmente no en combinación, con fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) o que la composición y/o el cineol no se usen como un complemento terapéutico (coterapéutico), especialmente no como una combinación terapéutica con medicamentos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs). De esta manera, se evitan eficazmente los efectos secundarios no deseables de los AINEs (especialmente porque su uso no es necesario en el

contexto del concepto de terapia de acuerdo con la invención).

5 Por lo tanto, en el contexto de la presente invención, está previsto por lo tanto el uso de cineol, en particular el 1,8-cineol, para uso en el tratamiento profiláctico o terapéutico de enfermedades tumorales malignas o enfermedades de carcinoma del área de cabeza y cuello, en particular carcinomas de cabeza y cuello, preferentemente carcinomas de células escamosas. Como se ha indicado anteriormente, en el caso de la enfermedad subyacente se trata de carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC).

10 En otras palabras, la presente invención se refiere al uso de una composición que contiene cineol, preferiblemente 1,8-cineol, como principio activo farmacéutico, en particular una composición farmacéutica, para el tratamiento profiláctico o terapéutico de enfermedades tumorales malignas o enfermedades de carcinoma del área de la cabeza y el cuello, preferentemente carcinomas de la cabeza y cuello, en particular de carcinomas de células escamosas, o para la preparación de un medicamento para el tratamiento profiláctico o terapéutico de enfermedades tumorales malignas o enfermedades de carcinoma del área de cabeza y cuello, en particular carcinomas de cabeza y cuello, preferentemente carcinomas de células escamosas.

15 La presente invención también se refiere al uso de cineol, en particular 1,8-cineol, como principio activo farmacéutico para el tratamiento profiláctico o terapéutico de enfermedades tumorales malignas o enfermedades de carcinoma del área de cabeza y cuello, en particular carcinomas de cabeza y cuello, preferiblemente carcinomas de células escamosas, o para la preparación de un medicamento para el tratamiento profiláctico o terapéutico de enfermedades tumorales malignas o enfermedades de carcinoma del área de cabeza y cuello, en particular carcinomas de cabeza y cuello, preferiblemente carcinomas de células escamosas.

20 Para más detalles sobre este aspecto de la invención, se puede hacer referencia a las siguientes realizaciones con respecto a los otros aspectos de la invención, que se aplican en consecuencia en relación con este aspecto de la invención.

25 La presente invención también se refiere - según un segundo aspecto de la presente invención - a medicamentos para uso en el tratamiento profiláctico y/o terapéutico de enfermedades tumorales malignas y/o enfermedades de carcinoma del área de cabeza y cuello, seleccionándose las enfermedades tumorales y/o enfermedades de carcinoma del área de cabeza y cuello a partir de carcinomas de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC), en donde el fármaco contiene 1,8-cineol como único principio activo, presentando el cineol una pureza de al menos el 95% en peso, basada en el cineol, y en donde el cineol está exento de otros terpenos.

30 Para más detalles sobre este aspecto de la invención, se puede hacer referencia a las realizaciones anteriores con respecto a los otros aspectos de la invención, que se aplican en consecuencia en relación con este aspecto de la invención.

35 Además, la presente invención se refiere - según un tercer aspecto de la presente invención - también a una combinación de sustancias activas, en particular en forma de un kit (kit de piezas), para uso en el tratamiento profiláctico y/o terapéutico de enfermedades tumorales malignas y/o enfermedades de carcinoma del área de cabeza y cuello, en donde las enfermedades tumorales y/o las enfermedades de carcinoma del área de cabeza y cuello se seleccionan a partir de carcinomas de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC),

en donde la combinación de principios activos comprende componentes espacialmente separados, pero funcionalmente conectados

40 (a) 1,8-cineol en forma de una composición farmacéutica que contiene cineol como único principio activo, para ser administrado por vía tópica o sistémica, en donde el cineol tiene una pureza de al menos 95% en peso, basada en el cineol, y el cineol está exento de otros terpenos, por un lado y

(b) al menos un oncocida, seleccionado a partir del grupo de agentes antitumorales, agentes quimioterapéuticos y citostáticos, en forma de una composición farmacéutica que contiene un oncocida, para aplicar por vía tópica o sistémica.

45 Para más detalles sobre este aspecto de la invención, se puede hacer referencia a las realizaciones anteriores con respecto a los otros aspectos de la invención, que se aplican en consecuencia en relación con este aspecto de la invención.

50 Como resultado, es posible dentro del contexto de la presente invención usar cineol, en particular 1,8-cineol, para la regulación, preferiblemente la inhibición y/o supresión, de la ruta de señalización de Wnt, en particular la ruta de transducción de señales de Wnt/ β -catenina, preferiblemente para la regulación y/o la reducción de la fosforilación de la proteína cinasa GSK-3, en particular en la serina-9 (GSK-3 α) y/o la serina-21 (GSK-3 β), como parte de la ruta de señalización de Wnt o para la activación de la proteína cinasa GSK-3 y/o para la desactivación y/o fosforilación de la β -catenina en el contexto de la ruta de señalización de Wnt, en el tratamiento profiláctico y/o terapéutico de enfermedades tumorales malignas y/o enfermedades de carcinoma del área de cabeza y cuello, en particular carcinomas de cabeza y cuello, preferiblemente carcinomas de células escamosas .

55

Del mismo modo, está previsto de acuerdo con la invención usar cineol, en particular 1,8-cineol, en el tratamiento profiláctico y/o terapéutico de la ruta de transducción de señales de Wnt, en particular la ruta de transducción de señales de Wnt/ β -catenina, en relación con enfermedades que están relacionadas y/o inducidas de ese modo, preferiblemente enfermedades tumorales malignas y/o enfermedades de carcinoma del área de cabeza y cuello, en particular carcinomas de cabeza y cuello, preferiblemente carcinomas de células escamosas.

Para ello el cineol se emplea en particular como regulador, preferiblemente inhibidor y/o supresor, de la ruta de señalización de Wnt, en particular la ruta de señalización de Wnt/ β -catenina, preferiblemente para la regulación y/o la reducción de la fosforilación de la proteína cinasa GSK-3, en particular en la serina-9 (GSK-3 α) y/o la serina-21 (GSK-3 β), en el contexto de la ruta de señalización de Wnt o para activar la proteína cinasa GSK-3 y/o como desactivador de β -catenina en el contexto de la ruta de señalización de Wnt.

Además, el cineol también se puede usar como un regulador, preferiblemente un inhibidor y/o supresor, de al menos un gen Wnt y/o una proteína Wnt, en particular del gen Wnt11 y/o la proteína Wnt11.

Otras propiedades ventajosas, aspectos y características de la presente invención se desprenden de la siguiente descripción de realizaciones ejemplares mostradas en las figuras, como también se detallan a continuación. Se muestra en la:

Fig. 1 la expresión de β -catenina activa y P-GSK3 (serina-9/-21) como reacción al cineol; para ello se emplean análisis de transferencia Western en proteínas procedentes de células completas para determinar el efecto de un tratamiento de 24 h con 1,8-cineol 100 μ M sobre el grado de expresión proteico de β -catenina activa (Fig. 1A), fosfo-GSK-3 (serina-9/-21) (Fig. 1B) y fosfo-GSK-3 (tirosina-279/-216) (Fig. 1C) en las líneas celulares permanentes HNSCC 60A/B y 16A/B; se emplea β -tubulina como control de carga;

Fig. 2 la localización subcelular de P-GSK-3 (serina-9/-21) como reacción al cineol; estudios inmunohistoquímicos muestran una disminución en la localización endolisosómica de fosfo-GSK-3 (serina-9/-21) como reacción al 1,8-cineol 100 μ M, en comparación con el medio de control; los núcleos se tiñen empleando DAPI;

Fig. 3 la expresión de Akt y P-Akt (treonina-308) como reacción a 1,8-cineol; análisis de transferencia Western de proteínas procedentes de células completas se usan para mostrar el efecto de 1,8-cineol 100 μ M sobre el nivel de expresión proteico de Akt y P-Akt (treonina-308) en las líneas celulares permanentes de HNSCC 60A/B y 16A/B; se emplea β -tubulina como control de carga;

Fig. 4 la expresión de Wnt11 como reacción al cineol; los niveles de expresión de Wnt11 se determinan en relación con el ARNm (Fig. 4A) y a nivel de proteína (Fig. 4B) usando experimentos con RT²-PCR Profiler y transferencia Western; los análisis de transferencia Western de proteínas procedentes de células completas se usan para mostrar el efecto del 1,8-cineol sobre el nivel de expresión de proteínas en las líneas celulares permanentes de HNSCC 60A/B, 16A/B, SCC154 y Carey24; se emplea β -tubulina como control de carga;

Fig. 5 la reducción dependiente de la dosis de la viabilidad de las líneas celulares de HNSCC a través de 1,8-cineol; para determinar si el tratamiento con 1,8-cineol conduce a una inhibición de la viabilidad celular de HNSCC se realizan pruebas celulares cuantitativas colorimétricas basadas en bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (Pruebas MTT); como reacción a una incubación con 1,8-cineol 700 μ M, se puede observar una viabilidad celular muy reducida de las células de HNSCC analizadas;

Fig. 6 un modelo de inhibición de Wnt/ β -catenina como reacción al 1,8-cineol; en el contexto de la presente invención, el solicitante ha mostrado por primera vez que el 1,8-cineol actúa como un inhibidor de la actividad de Wnt/ β -catenina y causa una fuerte disminución de la progresión celular de las células tumorales; los datos del solicitante muestran que el 1,8-cineol influye sobre la fosforilación inhibitoria y la localización endolisosómica de GSK3, especialmente GSK3- β , que es el regulador central de la actividad de β -catenina.

Para obtener más detalles sobre las realizaciones y las realizaciones ejemplares mostradas en las representaciones de las figuras, para evitar repeticiones innecesarias, se puede hacer referencia a las realizaciones anteriores así como a las siguientes realizaciones adicionales relacionadas con las realizaciones ejemplares, que se aplican de manera correspondiente con respecto a las representaciones de las figuras.

Resumiendo, con respecto a la presente invención, se debe destacar que en el caso de carcinomas de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC) se trata de una de las neoplasias sólidas más comunes en todo el mundo. Su aparición está particularmente relacionada con la exposición al humo del tabaco, el consumo de alcohol y las infecciones víricas, así como las infecciones con el VPH. Aunque se han logrado grandes avances en el tratamiento del HNSCC, las tasas de mortalidad siguen siendo altas debido a la invasión tumoral local, el desarrollo de metástasis y el fallo de la quimioterapia y la radioterapia.

La presente invención se dirige a un papel importante de la ruta de señalización de Wnt/ β -catenina en la tumorigénesis humana, particularmente del carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC). Sobre esta base, las proteínas especiales de esta ruta de señalización pueden servir como una diana eficaz para un nuevo enfoque terapéutico utilizando cineol como sustancia activa.

En particular, dentro del alcance de la presente invención, sin desear estar limitado a esa teoría, se muestra una participación activa de la proteína reguladora de Wnt/ β , glucógeno sintasa cinasa 3 (GSK-3) en las enfermedades cancerosas en cuestión. De este modo, una inhibición o fosforilación patológica o excesiva de GSK-3 en ciertos sitios de fosforilación puede estimular la formación de tumores mediante la activación de β -catenina. En consecuencia, GSK-3 puede actuar como un supresor tumoral en su forma favorecida por cineol que no está fosforilada en ciertos sitios de fosforilación. En particular, se puede suponer que GSK-3 es un regulador decisivo de la actividad del factor nuclear κ B (NF κ B). Se puede suponer que la fosforilación inhibidora regulada, en particular en la serina-9, como se ha mencionado anteriormente, es la causa de la activación de Wnt, en donde esta está regulada positivamente en el cáncer epitelial. Las rutas de señalización de Wnt son generalmente importantes para la determinación del desarrollo de tejidos, la diferenciación y la embriogénesis, la progresión tumoral y la invasividad.

Hasta la fecha se conoce un total de al menos 19 homólogos de Wnt en humanos, algunos de los cuales se han identificado como posibles moléculas de señalización para varios tipos de cáncer. En el presente caso, se puede mostrar en particular que los niveles o cantidades más altos de β -catenina activa se correlacionan con un mal pronóstico en HNSCC. En este contexto, una inhibición de la cascada de Wnt/ β -catenina se puede usar como una estrategia o una diana farmacológica o un objetivo para el tratamiento de HNSCC.

Los resultados encontrados en el contexto de la presente invención muestran que el cineol, en particular el 1,8-cineol, que es en particular el principio activo del fármaco clínicamente aprobado Soledum[®], actúa como un inhibidor de la actividad de Wnt/ β -catenina y conduce a una disminución de la progresión celular en el HNSCC. En particular, se puede mostrar dentro del contexto de la presente invención, la influencia del cineol, en particular el 1,8-cineol, sobre la regulación de la ruta de señalización de Wnt/ β -catenina en varias líneas celulares permanentes de HNSCC.

Los resultados muestran por primera vez que el cineol, especialmente el 1,8-cineol, puede inhibir la actividad de Wnt/ β -catenina en el HNSCC y conducir a un nivel de expresión reducido de Wnt11 y a una progresión celular reducida. Los resultados enumerados de acuerdo con la invención muestran de este modo una nueva actividad o un nuevo enfoque terapéutico (concepto de terapia) del cineol, en particular el 1,8-cineol, que conduce a nuevos enfoques terapéuticos para esta sustancia activa natural, tal y como se define de acuerdo con la invención.

Configuraciones, modificaciones y variaciones adicionales, así como ventajas de la presente invención, son fácilmente reconocibles y realizables por la persona experta en la técnica al leer la descripción, sin por ello abandonar el alcance de la presente invención.

Las siguientes realizaciones ejemplares sirven solo para ilustrar la presente invención, pero sin restringir a las mismas la presente invención.

Realizaciones ejemplares

1. Realizaciones generales:

La presente invención se dirige a un papel importante de la ruta de señalización de Wnt/ β -catenina en la tumorigénesis humana de enfermedades tumorales de la cabeza y el cuello, en particular en forma de carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC). En particular, la presente invención muestra una participación activa de la proteína reguladora de Wnt/ β , glucógeno sintasa cinasa 3 (GSK-3) en los cánceres en cuestión, en particular en el contexto de una supresión tumoral o como un supresor tumoral en su forma no fosforilada en relación con ciertos sitios de fosforilación, favorecida mediante cineol.

Los resultados encontrados de acuerdo con la invención muestran que el cineol, en particular el 1,8-cineol, actúa como un inhibidor de la actividad de Wnt/ β -catenina y conduce a una progresión celular reducida en el HNSCC. De acuerdo con la invención, la influencia de cineol, en particular de 1,8-cineol, sobre la regulación de la ruta de señalización de Wnt/ β -catenina se puede mostrar en varias líneas celulares permanentes de HNSCC.

Los resultados muestran por primera vez que el cineol, en particular el 1,8-cineol, puede inhibir la actividad de Wnt/ β -catenina en el HNSCC y conducir a un nivel de expresión reducido de Wnt11 y a una progresión celular reducida. Los resultados mencionados de acuerdo con la invención muestran, por lo tanto, una nueva actividad (mecanismo) del cineol, en particular 1,8-cineol, que conduce a nuevos enfoques terapéuticos o conceptos de terapia, tal como se definen de acuerdo con la invención y se han descrito previamente.

2. Materiales y métodos

Células y condiciones para cultivos celulares.

Las líneas celulares adherentes humanas de carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (UT-SCC16A, UT-SCC-16B, UT-SCC-60A y UT-SCC-60B) examinadas en el contexto de la presente invención, se almacenan en "Medio Eagle modificado con Dulbecco" (DMEM, 4,5 g/l de D-glucosa y L-glutamina), que está complementado con 10% de suero fetal bovino (FBS) (ambos de Life Technologies, Carlsbad, CA, EE.UU.), piruvato de sodio al 1% (PAN-Biotech, Aidenbach, Alemania) y antibióticos al 1% (10.000 U/ml de penicilina, 10.000 μ g/ml de estreptomycin) (Biochrom, Berlín, Alemania), a 37 °C, bajo 5% de CO₂ y 95% de atmósfera de aire.

Anticuerpos

Los anticuerpos anti-fosfo-GSK-3 α / β (serina-21/-9) (#9331) y los anticuerpos anti-GAPDH (#2118) se obtienen a partir de Cell Signaling Technology (Danvers, MA, EE.UU.). Ambos anticuerpos se usan en una dilución 10:1.000 en TBS con BSA al 3% (PAA Laboratories, Pasching, Austria). Los anticuerpos anti-fosfo-GSK-3 α / β (Y279/Y216) (#ab6847) se obtienen a partir de Abcam (Cambridge, Reino Unido) y se usan en una dilución 1:1.000 en TBS con BSA al 3%. El anticuerpo dirigido contra β -catenina activa (#05-665) se obtiene a partir de Merck Millipore (Billerica, MA, EE.UU.) y se usa en una dilución de 1:2.000 en TBS y leche en polvo al 3% (Carl Roth, Karlsruhe, Alemania). Los anticuerpos secundarios específicos de especie de IgG anti-ratón (molécula completa)-peroxidasa (# A9044) e IgG anti-conejo (molécula completa)-peroxidasa (# A0545) se obtienen a partir de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EE.UU.) y en una dilución 1:50.000 en TBS con BSA al 3% o leche en polvo al 3%.

Transferencia Western

Las células se lavan dos veces en PBS helado y luego se lisan en tampón RIPA (Cell Signaling Technology, Danvers, MA, EE.UU.) con aprotinina, pepstatina A, mezcla inhibidora de proteasa y fluoruro de fenilmetanosulfonilo (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EE.UU.) durante 1,5 horas. Los restos celulares se eliminan por centrifugación (13.000 rpm, 4 °C, 10 minutos). La concentración de proteína se determina usando la prueba de Bradford con reactivo de colorante Quick Start™ concentrado una vez (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, EE.UU.). Se añade tampón de muestra de SDS concentrado cuatro veces y las muestras se desnaturalizan durante 5 minutos a 95°C. Se separan cantidades equivalentes de proteína (30 μ g) mediante SDS-PAGE en un gel de poli(acrilamida) al 10% y se transfieren a membranas de nitrocelulosa mediante inmunotransferencia. Para la extracción de proteínas a partir de los tejidos, los tejidos se homogenizan primero en 500 μ l de tampón RIPA con inhibidores de proteasa utilizando un TissueLyser LT (Qiagen, Hilden, Alemania), luego se incuban y se centrifugan como se ha descrito anteriormente.

Las membranas se bloquean con TBS que contiene BSA al 3% o leche en polvo al 3% durante 1 hora a temperatura ambiente y luego se incuban con el anticuerpo primario durante la noche a 4°C. Después de una etapa de lavado con TBS, las membranas se incuban con el anticuerpo secundario específico de la especie durante 1 hora a temperatura ambiente. Las bandas de proteínas se visualizan empleando el reactivo de detección de transferencia Western Amersham™ ECL™ Primer (GE Healthcare, Chalfont St Giles, Buckinghamshire, Reino Unido) y Fusion-FX7, así como el programa informático correspondiente Fusion Bio-1D V12.14 (Vilber-Lourmat, Eberhardzell, Alemania) después de un lavado a fondo. Las membranas de nitrocelulosa se incuban durante la noche a 4 °C con un anticuerpo de GAPDH para determinar la carga de cada carril. Las membranas se lavan nuevamente y se incuban con el anticuerpo secundario y el reactivo de detección de ECL.

Prueba de PCR para la transición epitelial-mesenquimática humana (EMT)

Con la "Matriz de PCR para la transición de epitelial a mesenquimática humana (EMT) RT² Profiler™" se detecta la expresión de 84 genes clave que alteran su expresión durante ese proceso o regulan la expresión de los genes cambiantes. La prueba incluye genes que codifican receptores de la superficie celular, matriz extracelular y citoesqueleto, que controlan la adhesión celular, la migración, la motilidad y la morfogénesis, así como genes para la transducción de señales y factores de transcripción que determinan la EMT y los procesos asociados con ella.

Inmunohistoquímica

Se utiliza un método inmunohistoquímico para detectar E-cadherina dentro de las células tumorales. Las células se transfieren a portaobjetos con cámaras de 4 pocillos (Sarstedt AG, Numbrecht, Alemania), 24 horas antes del tratamiento con cineol 100 μ M. Después de la incubación, se retiró el medio y las células se lavaron dos veces en PBS. Para la tinción intracelular, las células se fijan con Triton-X-100 al 0,1% (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim) en PBS. El anticuerpo primario específico anti-fosfo-GSK-3 α / β (Serin-21/-9) (#9331) (Cell Signaling, Danvers, MA, EE.UU.) se mezcla con un tampón de dilución de anticuerpos, que contiene un tampón de bloqueo (DCS LabLine, DCS, Hamburgo, Alemania), diluido a 1:50 y se incuban en una cámara humidificada durante 1 hora a temperatura ambiente (TA). Después de lavar con PBS, se incuban el segundo anticuerpo de cabra anti-ratón-FITC (Jackson ImmunoResearch Laboratories, West Grove, EE.UU.) en una dilución de 1:100 durante 45 minutos. Las células se lavan tres veces con PBS. Los núcleos celulares se tiñen durante 1 minuto usando DAPI (1 μ g/ml, Roche Diagnostics, Mannheim, Alemania). Las muestras se lavan tres veces durante 5 minutos con PBS y luego se incluyen en Fluoromount G (Southern Biotechnologies Associates, Birmingham, Alabama, EE.UU.). Las muestras se evalúan con un microscopio 200M (Zeiss, Gotinga, Alemania) utilizando microscopía de fluorescencia (AHF Analysetechnik AG, Tübingen, Alemania). Las células se fotografiaron utilizando una AxioCam MRm Rev.3 FireWire y el programa informático AxioVision Rel. 4.7 (Zeiss, Jena, Alemania).

1,8-Cineol

El principio activo se utiliza en forma de 1,8-cineol a partir de las cápsulas de Soledum® (Klosterfrau Healthcare Group, Cassella-med GmbH & Co. KG, Colonia, Alemania). La sustancia pura aislada a partir del aceite de eucalipto, es decir, 1,8-cineol puro con una pureza >99% (0,6 mg/ μ l o 600 mg/ml de 1,8-cineol) se almacena a 4 °C, mientras que la solución madre se prepara al disolver la sustancia pura en etanol (100 mg/ml), seguido de una dilución final con "DMEM High-Glucose" (Biochrom, Berlín, Alemania; 1 mg/ml).

Ensayo MTT

La proliferación celular se determina usando una prueba celular cuantitativa colorimétrica basada en bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT). Esta prueba determina el número de células viables en función de la conversión mitocondrial de MTT.

- 5 Para este fin, se distribuyen 5.000 células en cada pocillo de una placa de 96 pocillos. Después de 24 horas de cultivo, se añaden cuatro concentraciones diferentes de 5-fluorouracilo o cisplatino a los cultivos, o las células se irradian con tres dosis. Después de 48 horas, se añaden 10 µl de colorante MTT (5 mg/ml) a cada pocillo. Después de dos horas de incubación con MTT, los cristales se disolvieron y se agitaron suavemente durante 24 horas a temperatura ambiente. La absorción de los productos de formazán reducidos en los pocillos de control y de muestras a una longitud de onda de 570 nm y 690 nm se determina utilizando un lector de ELISA de múltiples pocillos. Todas las pruebas de crecimiento de la prueba MTT se llevan a cabo por triplicado.

3. Resultados

Disminución de la actividad de β-catenina como reacción al tratamiento con 1,8-cineol

- 15 Para investigar la influencia del 1,8-cineol sobre la actividad y la regulación de la cascada de señalización de Wnt/β-catenina, primero se analiza el nivel de expresión de la β-catenina activa, que es una proteína activadora transcripcional central de esta ruta de señalización. Los resultados muestran generalmente una fuerte disminución de la β-catenina activa como reacción a una incubación de 24 horas con 1,8-cineol 100 µM en las líneas celulares de HNSCC analizadas, en comparación con el control del medio. Estos datos muestran una inhibición de la ruta de señalización de Wnt/β-catenina en el HNSCC como resultado del tratamiento con 1,8-cineol (Fig. 1A).

- 20 Regulación de GSK3 como reacción a 1,8-cineol

En una etapa posterior, se llevarán a cabo más investigaciones para investigar los niveles de fosforilación correspondientes del regulador de β-catenina, GSK-3. GSK-3 es una proteína cinasa constitutivamente activa que se inhibe mediante una fosforilación en la serina-9 (GSK-3α) o la serina-21 (GSK-3β). Se llevan a cabo experimentos de transferencia Western para examinar los niveles de expresión y fosforilación de GSK-3α/β en presencia y ausencia de 1,8-cineol 100 µM.

- 25 Los datos obtenidos por el solicitante muestran claramente que el cineol conduce a un nivel reducido o a un contenido reducido en GSK-3α/β fosforilado (serina-9/-21), lo que en consecuencia conduce a una mayor actividad de GSK-3 y, por lo tanto, conduce a un aumento de la degradación de β-catenina (Fig. 1B). La fosforilación de la tirosina-279 en GSK-3α y la tirosina-216 en GSK-3β conduce a una mayor actividad de GSK-3. Como se muestra en la Fig. 1C, los niveles de expresión de GSK-3α/β (tirosina-279/-216) no están influenciados significativamente por 1,8-cineol.

- 30 Además de la fosforilación en la serina-9/-21, como se ha definido previamente, la actividad de GSK-3 también está regulada a nivel de localización subcelular. Para reducir la actividad de la cinasa, GSK-3 se puede reorganizar en vesículas endolisosómicas para separarlas de sus sustratos. Los estudios inmunohistoquímicos realizados a este respecto muestran una localización endolisosómica reducida de GSK-3 como reacción a 1,8-cineol 100 µM, lo que apoya su inhibición reducida después del tratamiento con 1,8-cineol (Figura 2).

- 35 GSK-3 está involucrada en la regulación de numerosas rutas biosintéticas y numerosas cinasas son capaces de regular la actividad de GSK-3 por medio de la fosforilación en sus sitios de fosforilación que son activadores o inhibidores. La Akt cinasa (también conocida como PKB) se ha identificado en la técnica como un oncogén con actividad serina/reonina cinasa y se ha mostrado que es un regulador negativo de la actividad de GSK-3β *in vivo*. Akt se activa mediante la unión de fosfolípidos y el bucle de activación a través de la fosforilación de la reonina-308 mediante PDK1. En este contexto, los niveles de expresión y fosforilación de Akt como reacción al 1,8-cineol 100 µM se analizan en un primer enfoque. Ni la expresión ni la fosforilación de la reonina-308 por Akt están influenciadas significativamente en las líneas celulares analizadas (Figura 3).

- 45 Disminución de la expresión de Wnt11 como reacción al 1,8-cineol

Además, con respecto a la señalización de Wnt/β-catenina, debido a su implicación en la regulación de la transición epitelial-mesenquimática (EMT), se examinan los perfiles transcripcionales de varios genes que están relacionados con EMT, como reacción al 1,8-cineol. Para ello se emplea el "RT² EMT Profiler" basado en la PCR, que permite el análisis exhaustivo de 84 genes diferentes relacionados con la EMT. Los datos obtenidos mostraron una fuerte disminución en los niveles de ARNm de Wnt11 como reacción al 1,8-cineol 100 µM en las líneas celulares analizadas de HNSCC.

- 50 Para confirmar este resultado a nivel de proteína, se analizan seis líneas celulares diferentes de HNSCC usando experimentos de transferencia Western, usando un anticuerpo anti-Wnt11 específico. Se puede mostrar que la expresión proteica de Wnt11 disminuye de forma dependiente de la dosis como reacción al 1,8-cineol. Las líneas celulares permanentes analizadas de HNSCC 16A, SCC154, 60B y Carey24 muestran una fuerte disminución de la

55

regulación de Wnt11 después de 24 horas de tratamiento con cineol 1 mM. Las líneas celulares 16B y 60A también muestran una disminución en la expresión de la proteína Wnt11, incluso si es más baja (Fig. 4).

Inhibición dependiente de la dosis de la proliferación de HNSCC mediante 1,8-cineol

5 Para determinar si el tratamiento con 1,8-cineol conduce a una inhibición de la viabilidad celular de HNSCC, se llevan a cabo pruebas de MTT. Para este fin, las células se incuban durante 288 horas en cineol 300 μ M o 700 μ M.

Como reacción al tratamiento con cineol 700 μ M, se puede observar una fuerte disminución de la proliferación y la viabilidad celular de las células HNSCC en las líneas celulares permanentes analizadas (Figura 5).

Influencia del cineol sobre la vitalidad y la proliferación celular.

10 Se llevan a cabo estudios adicionales para analizar la influencia del cineol sobre la vitalidad y la proliferación de varias líneas celulares permanentes. Para este fin, se usan por un lado las dos líneas celulares HNSCC y una línea celular de fibroblastos. Estas se cultivan durante un periodo de 250 horas con diferentes concentraciones de cineol (1 mM a 10 mM) y la vitalidad de las células se examina en cada caso mediante un ensayo de MTT. Se encuentra tanto una influencia inhibitoria del cineol sobre la progresión y la vitalidad del HNSCC, como una influencia inhibitoria del cineol sobre la progresión y la vitalidad de los fibroblastos.

15 Estas investigaciones subrayan claramente el fuerte efecto inhibitorio de la proliferación del cineol, incluso desde una concentración de 1 mM a 2 mM, y el efecto claramente citotóxico con 10 mM en las especies celulares examinadas.

Las investigaciones muestran la influencia de cineol sobre la viabilidad y la progresión celular en especies de células malignas.

4. Discusión

20 El óxido de monoterpeneo 1,8-cineol es el principio activo a base de plantas naturales del medicamento clínicamente aprobado Soledum[®], que se usa para la terapia de enfermedades respiratorias como sinusitis crónica, bronquitis o asma. El 1,8-cineol se usa en la técnica anterior como principio activo antibacteriano y antiinflamatorio.

25 En contraste, los resultados actuales muestran por primera vez un nuevo modo de acción del 1,8-cineol al inhibir la ruta de señalización de Wnt/ β -catenina en el HNSCC, lo que conduce a un nivel de expresión reducido de Wnt11 y a una progresión celular reducida. Esto conduce a un nuevo concepto terapéutico.

30 Los ligandos de Wnt son una gran familia de proteínas secretadas que tienen un papel importante en una variedad de procesos, como el desarrollo embrionario, la proliferación celular o la polaridad celular. Las señales de Wnt se clasifican en general en dos tipos, a saber, el tipo canónico (dependiente de β -catenina) y el no canónico (independiente de β -catenina). Esta clasificación se basa en la actividad biológica, por la cual los Wnts canónicos (por ejemplo, Wnt 1 y Wnt 3a) inducen la formación de un eje secundario en embriones de *Xenopus laevis*, mientras que los Wnts no canónicos (por ejemplo, Wnt 4, Wnt 5a y Wnt 11) no lo hacen. De hecho, la señalización Wnt es significativamente más compleja y contextual. Se conocen numerosas cascadas reguladoras intercelulares, algunas de las cuales consisten tanto en componentes canónicos como no canónicos.

35 Resumiendo, los resultados mencionados anteriormente en la sección 3.) muestran un nuevo enfoque terapéutico y un efecto para la actividad de 1,8-cineol, a saber, la inhibición de la ruta de señalización de Wnt/ β -catenina, especialmente en HNSCC, lo que conduce a un nivel de expresión reducido de Wnt11 y a una progresión celular reducida, de modo que, de acuerdo con la invención, sobre esta base se proporciona un nuevo enfoque de tratamiento de cineol como principio activo natural o basado en la naturaleza.

40 En el contexto de este trabajo, el solicitante ha mostrado por primera vez que el 1,8-cineol actúa como un fuerte inhibidor de la actividad de Wnt/ β -catenina y conduce por tanto a una fuerte disminución de la progresión celular.

La degradación reducida de β -catenina se correlaciona con una inhibición influenciada o modulada o controlada de GSK3, en particular de GSK3- β , en donde las proteínas mencionadas responsables de este mecanismo no se han esclarecido adicionalmente (véase la Figura 6 como modelo).

45 Resumiendo, se puede afirmar que los resultados del solicitante muestran un nuevo concepto de terapia para la actividad de 1,8-cineol y conducen a nuevas aplicaciones en tratamientos de este medicamento natural. En resumen, en el contexto de la presente invención, se puede poner a disposición por primera vez, un concepto de terapia novedoso, al menos esencialmente exenta de efectos secundarios para el tratamiento profiláctico y/o terapéutico, en particular, de enfermedades tumorales malignas y/o enfermedades de carcinoma del área de la cabeza y el cuello basándose en un principio activo basado en la naturaleza (cineol, en particular 1,8-cineol), con lo que las desventajas de la técnica anterior se pueden evitar o debilitar, al menos en gran medida, y con lo que se puede lograr una eficacia excelente en comparación o además de los conceptos de terapia de la técnica anterior.

50

REIVINDICACIONES

1. Composición, en particular composición farmacéutica, para uso en el tratamiento profiláctico y/o terapéutico de enfermedades tumorales malignas y/o enfermedades de carcinomas de la región de la cabeza y cuello,
 5 en donde las enfermedades tumorales y/o enfermedades de carcinomas de la región de la cabeza y cuello se seleccionan a partir de carcinomas de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC),
 en donde la composición contiene 1,8-cineol como único principio activo,
 en donde el cineol tiene una pureza de al menos el 95% en peso, en relación con el cineol, y en donde el cineol está exento de otros terpenos.
2. Composición para uso según la reivindicación 1, en donde las enfermedades tumorales y/o las enfermedades de carcinomas de la región de la cabeza y el cuello se seleccionan a partir del grupo de carcinomas de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC) de la cavidad oral, la orofaringe, la nariz interna, el seno paranasal y la nasofaringe.
3. Composición para uso según la reivindicación 1 o 2, en donde los carcinomas de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC) se seleccionan a partir del grupo de carcinomas de la cavidad oral, carcinomas orofaríngeos, carcinomas de la cavidad nasal, carcinomas nasofaríngeos, carcinomas hipofaríngeos, carcinomas laríngeos y carcinomas traqueales, en particular a partir del grupo de carcinomas de la cavidad oral, carcinomas orofaríngeos, carcinomas de la cavidad nasal y carcinomas nasofaríngeos.
4. Composición para uso según una de las reivindicaciones precedentes, en donde la composición se emplea para un tratamiento profiláctico y/o terapéutico de afecciones postoperatorias.
- 20 5. Composición para uso según una de las reivindicaciones precedentes, en donde la composición se emplea para un tratamiento profiláctico y/o terapéutico del carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC) después de una ablación quirúrgica previa de tumores.
- 25 6. Composición para uso según una de las reivindicaciones precedentes, en donde el cineol tiene una pureza de al menos 96% en peso, preferiblemente de al menos 97% en peso, particularmente preferible de al menos 98% en peso, muy particularmente preferible de al menos 99% en peso, incluso más preferiblemente de al menos 99,5% en peso, en relación con el cineol.
7. Composición para uso según una de las reivindicaciones precedentes, en donde la composición contiene el cineol en cantidades eficaces, en particular farmacéuticamente eficaces.
- 30 8. Composición para uso según una de las reivindicaciones precedentes, en donde la composición contiene el cineol, en relación con la composición, en cantidades relativas en el intervalo de 0,0001 a 80% en peso, en particular de 0,001 a 75% en peso, preferiblemente de 0,005 a 70% en peso, preferiblemente de 0,01 a 60% en peso, particularmente preferible de 0,05 a 55% en peso, muy particularmente preferible de 0,1 a 50% en peso.
- 35 9. Composición para uso según una de las reivindicaciones precedentes, en donde el cineol se administra con una dosis diaria en el intervalo de 0,1 a 5.000 mg/día, en particular en el intervalo de 1 a 3.000 mg/día, preferiblemente en el intervalo de 5 a 2.500 mg/día, más preferible en el intervalo de 10 a 2.000 mg/día, particularmente preferible en el intervalo de 50 a 1.500 mg/día.
- 40 10. Composición para uso según una de las reivindicaciones precedentes,
 en donde el cineol se administra sistémicamente con una dosis diaria en el intervalo de 10 a 5.000 mg/día, en particular en el intervalo de 50 a 3.000 mg/día, preferiblemente en el intervalo de 100 a 2.500 mg/día, más preferible en el intervalo de 150 a 2.000 mg/día, particularmente preferible en el intervalo de 200 a 1.500 mg/día, o sino
 en donde el cineol se administra tópicamente con una dosis diaria en el intervalo de 0,1 a 2.000 mg/día, en particular en el intervalo de 0,5 a 1.500 mg/día, preferiblemente en el intervalo de 1 a 1.000 mg/día, más preferible en el intervalo de 2 a 1.500 mg/día, particularmente preferible en el intervalo de 5 a 1.000 mg/día.
- 45 11. Composición para uso según una de las reivindicaciones precedentes, en donde la composición se emplea como un agente terapéutico de combinación con oncocidas, en particular seleccionados a partir del grupo de agentes antitumorales, agentes quimioterapéuticos y citostáticos, y/o con radioterapia.
- 50 12. Medicamento para uso en el tratamiento profiláctico y/o terapéutico de enfermedades tumorales malignas y/o enfermedades de carcinomas del área de la cabeza y el cuello, en donde las enfermedades tumorales y/o las enfermedades de carcinomas del área de la cabeza y el cuello se seleccionan a partir de carcinomas de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC),
 en donde el medicamento contiene 1,8-cineol como único principio activo,

en donde el cineol tiene una pureza de al menos el 95% en peso, en relación con el cineol, y en donde el cineol está exento de otros terpenos.

5 13. Combinación de principio activo para uso en el tratamiento profiláctico y/o terapéutico de enfermedades tumorales malignas y/o enfermedades de carcinomas del área de la cabeza y el cuello, en donde las enfermedades tumorales y/o las enfermedades de carcinomas del área de la cabeza y el cuello se seleccionan a partir de carcinomas de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC),

en donde la combinación de principio activo comprende como componentes espacialmente separados pero funcionalmente relacionados

10 (a) 1,8-cineol en forma de una composición farmacéutica que contiene cineol como único principio activo y que debe administrarse por vía tópica o sistémica, en donde el cineol tiene una pureza de al menos 95% en peso, en relación con el cineol, y en donde el cineol está exento de otros terpenos, por un lado, y

(b) al menos un oncocida, seleccionado a partir del grupo de agentes antitumorales, agentes quimioterapéuticos y citostáticos, en forma de una composición farmacéutica que contiene un oncocida y que se administra por vía tópica o sistémica.

15

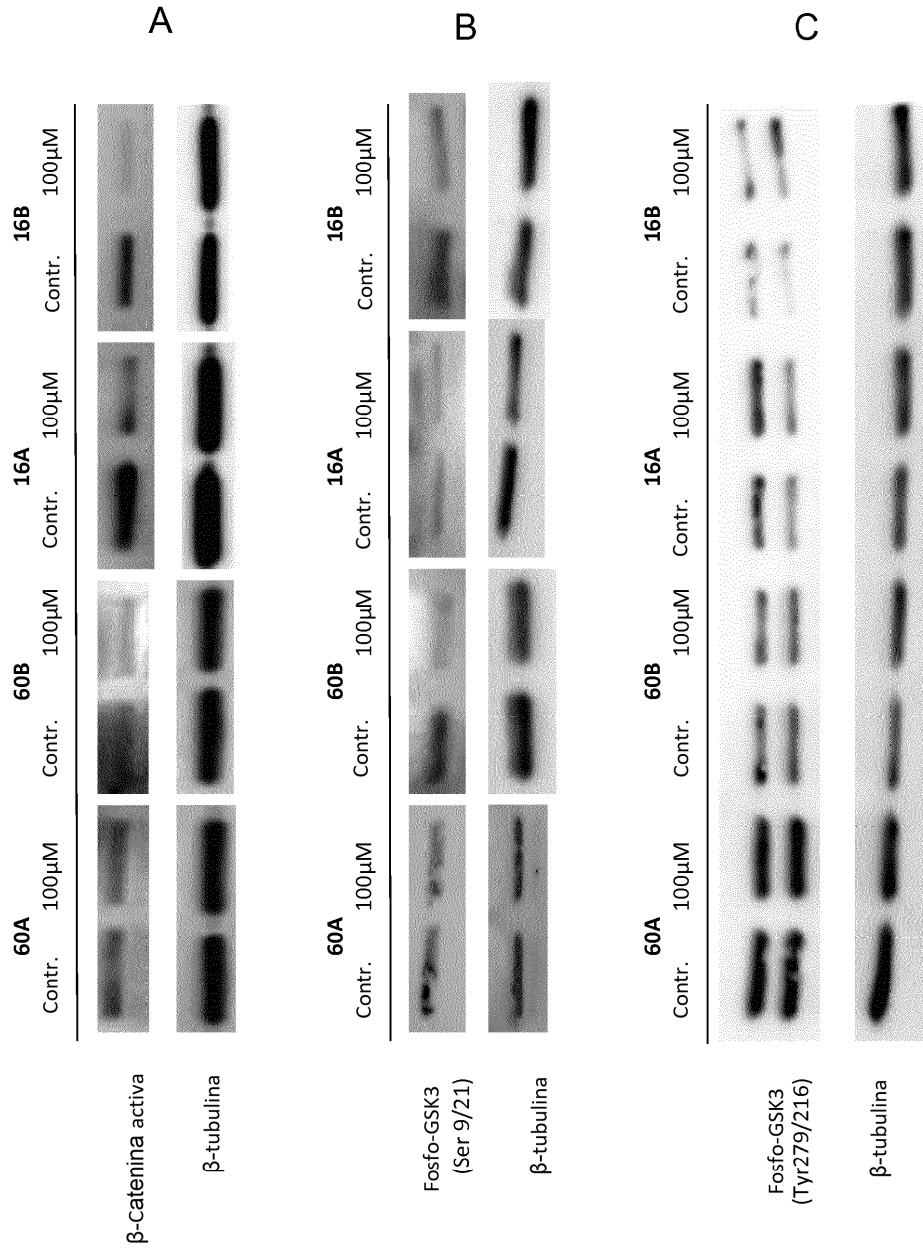
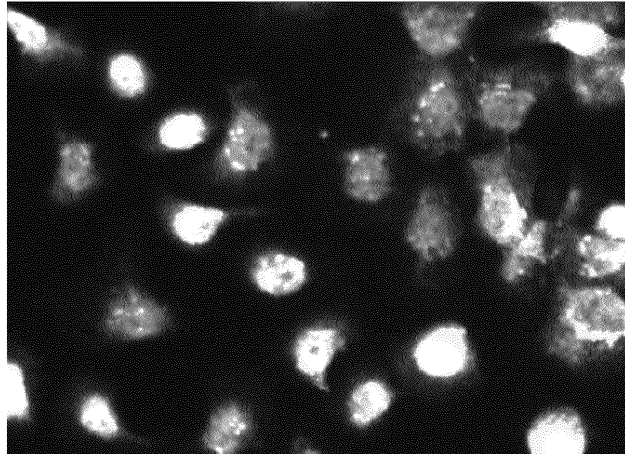


Fig. 1

Control



1,8-Cineol

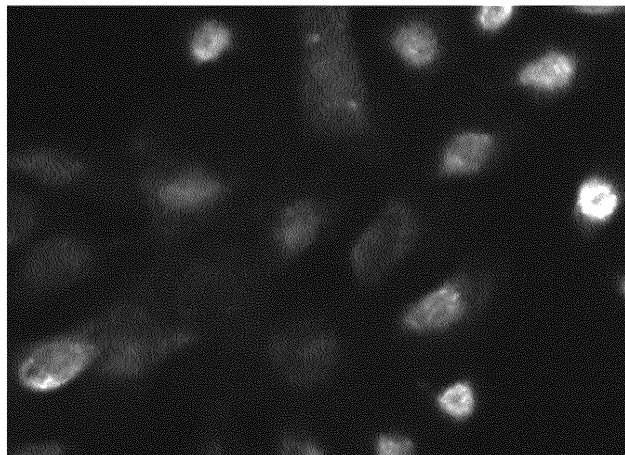


Fig. 2

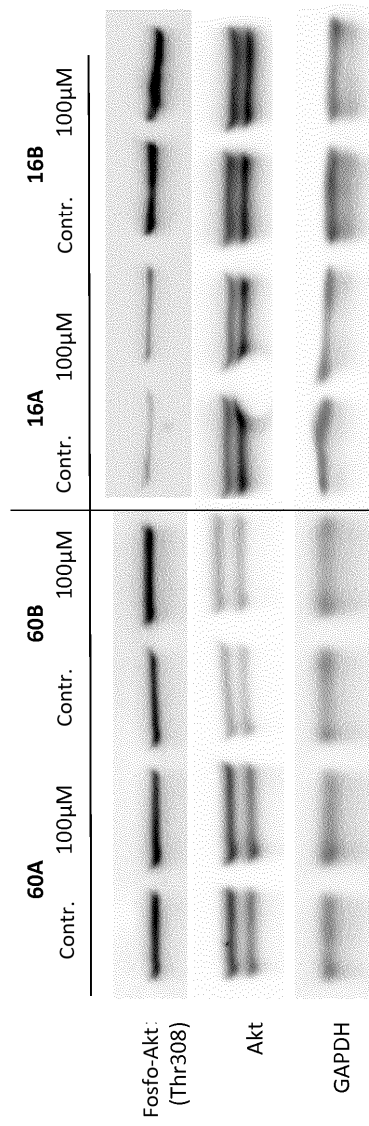


Fig. 3

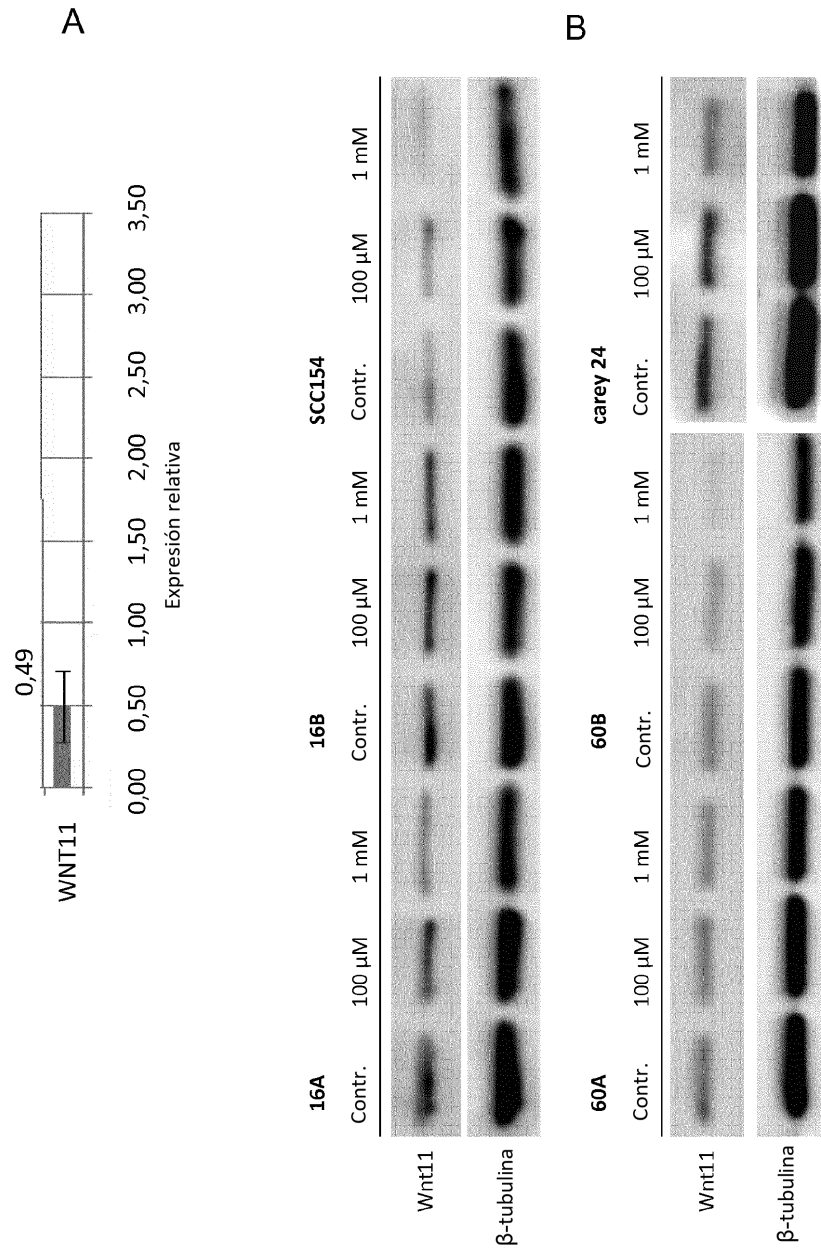


Fig. 4

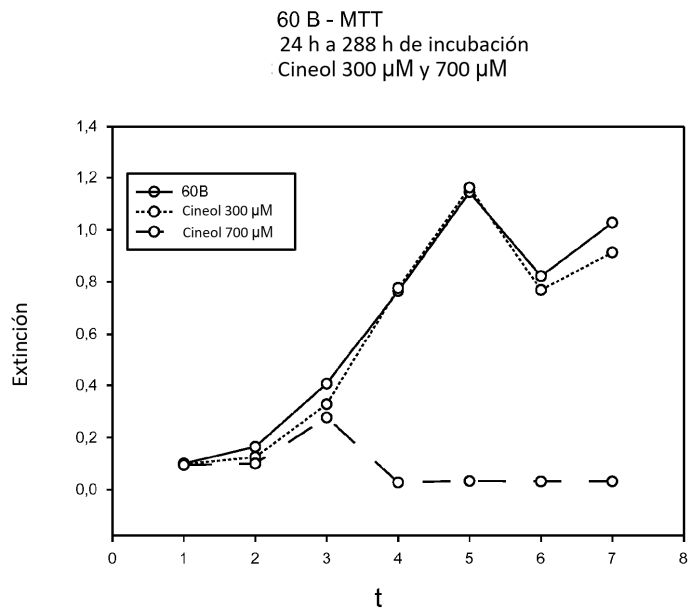
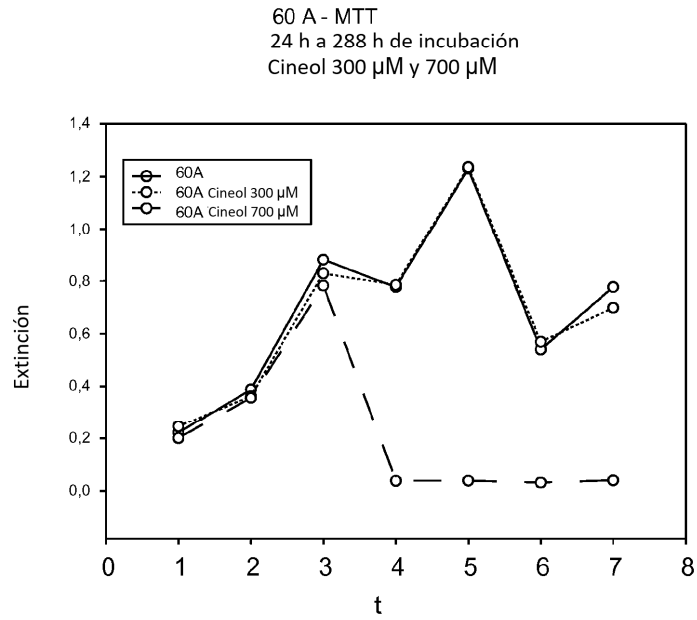


Fig. 5

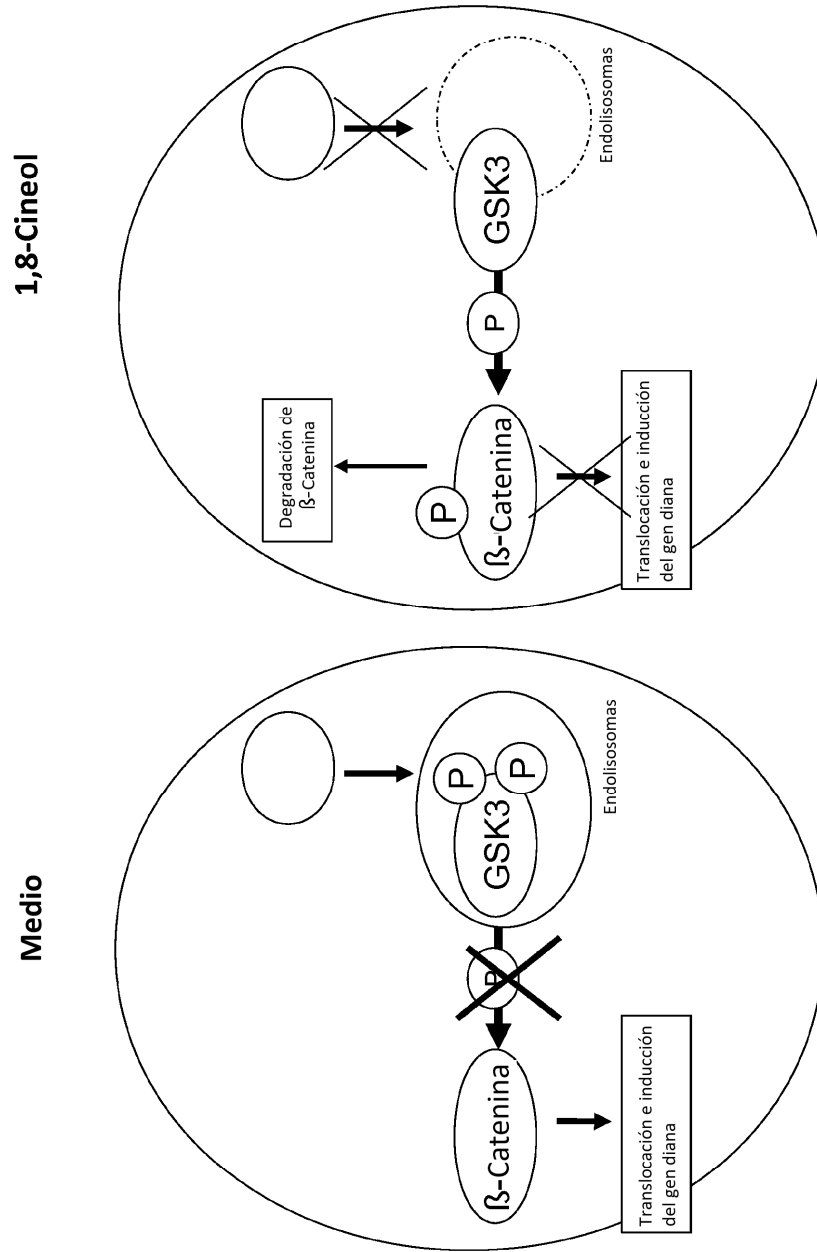


Fig. 6