

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 788 598**

51 Int. Cl.:

A61K 31/122 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

A61K 36/07 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

A61P 25/16 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.11.2013 PCT/US2013/070625**

87 Fecha y número de publicación internacional: **30.05.2014 WO14081675**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.11.2013 E 13857519 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.04.2020 EP 2922534**

54 Título: **Métodos y composiciones para tratar enfermedades neurodegenerativas**

30 Prioridad:

21.11.2012 US 201261729295 P

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

22.10.2020

73 Titular/es:

**GOLDEN BIOTECHNOLOGY CORPORATION
(100.0%)**

**101 Hudson Street Suite 2100
Jersey City NJ 07302, US**

72 Inventor/es:

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

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 788 598 T3

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

DESCRIPCIÓN

Métodos y composiciones para tratar enfermedades neurodegenerativas

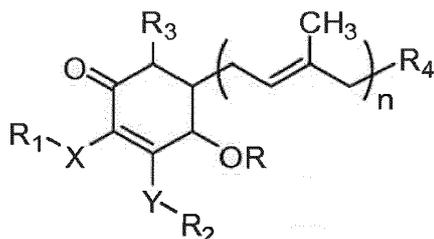
Antecedentes de la invención

5 La neurodegeneración es el término general para la pérdida progresiva de estructura o función de neuronas, incluyendo la muerte de neuronas. Muchas enfermedades neurodegenerativas, incluyendo la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Alzheimer y la enfermedad de Huntington, se producen como resultado de procesos neurodegenerativos. Puede encontrarse neurodegeneración en muchos niveles diferentes de circuitos neuronales que van desde molecular a sistémico.

10 La enfermedad de Alzheimer (EA) se caracteriza por la pérdida de neuronas y sinapsis en la corteza cerebral y determinadas regiones subcorticales. Los individuos con EA muestran una pérdida del 70% de células del *locus coeruleus* que proporcionan norepinefrina. La norepinefrina, además de su papel de neurotransmisor, difunde localmente desde las "varicosidades" como agente antiinflamatorio endógeno en el microentorno alrededor de las neuronas, las células gliales y los vasos sanguíneos en la neocorteza y el hipocampo. Se ha demostrado que la norepinefrina estimula la microglia de ratón para suprimir la producción de citocinas inducida por β -amiloide ($A\beta$) y su fagocitosis de $A\beta$. Se estima que alrededor de 18 millones de personas en todo el mundo tienen EA.

Chi-Huang Chang *et al.* ("Antrodia cinnamomea Exhibits a Potent Neuroprotective Effect in the PC12 Cell- $A\beta$ 25-35 Model - Pharmacologically through Adenosine Receptors and Mitochondrial Pathway", *Planta Med* 2012; 78 (17): 1813-1823), describen el uso de un modelo celular PC12 para investigar los efectos farmacéuticos de extractos etanólicos de *Antrodia cinnamomea*.

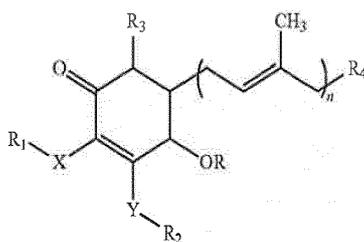
20 El documento WO 2013/148701 (A1) describe un método para el tratamiento de la aterosclerosis que comprende administrar a un sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de ciclohexenona que tiene la estructura:



25 Li-Chun Wang *et al.* ("In vitro and in vivo comparisons of the effects of the fruiting body and mycelium of *Antrodia camphorata* against amyloid β -protein-induced neurotoxicity and memory impairment", *Appl Microbiol Biotechnol* (2012) 94: 1505) describen un estudio que compara el efecto del cuerpo fructífero y el micelio de *A. camphorata* en el alivio de la neurocitotoxicidad inducida por $A\beta$ 40 en el modelo celular de neuronas dañadas por $A\beta$ *in vitro* (célula PC-12 tratada con $A\beta$ 40) y el deterioro de memoria en el modelo animal de EA *in vivo* inducido con una infusión cerebral continua de $A\beta$ 40.

30 Liu *et al.* ("Comparative anti-inflammatory characterization of wild fruiting body, liquid-state fermentation, and solid-state culture of *Taiwanofungus camphoratus* in microglia and the mechanism of its action", *Journal of Ethnopharmacology* Volumen 113, número 1, 15 de agosto de 2007, páginas 45-53) describen un estudio utilizando extractos de *Taiwanofungus camphoratus* a partir de cuerpos fructíferos silvestres y dos tipos de cultivo artificial (cultivo en estado sólido y fermentación en estado líquido) para examinar sus efectos antiinflamatorios en las células de microglia y sus posibles funciones en la protección contra enfermedades neurodegenerativas.

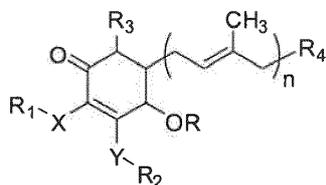
El documento US2012071426 (A1) describe un compuesto de fórmula



aislado a partir de *A. camphorata*.

Compendio de la invención

En un aspecto proporcionado en el presente documento, hay una composición farmacéutica que consiste en una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de ciclohexenona que tiene la estructura:



, y al menos un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable,

5 en donde cada uno de X e Y es independientemente oxígeno, NR₅ o azufre;

R es un hidrógeno o C(=O)alquilo C₁-C₈;

cada uno de R₁, R₂ y R₃ es independientemente un hidrógeno, metilo o (CH₂)_m-CH₃;

R₄ es NR₅R₆, OR₅, OC(=O)R₇, C(=O)OR₅, C(=O)R₅, C(=O)NR₅R₆, halógeno, lactona de 5 o 6 miembros, alquilo C₁-C₈, alquenilo C₂-C₈, alquinilo C₂-C₈, arilo, glucosilo,

10 en donde la lactona de 5 o 6 miembros, alquilo C₁-C₈, alquenilo C₂-C₈, alquinilo C₂-C₈, arilo y glucosilo están opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes seleccionados de NR₅R₆, OR₅, OC(=O)R₇, C(=O)OR₅, C(=O)R₅, C(=O)NR₅R₆, alquilo C₁-C₈, alquenilo C₂-C₈, alquinilo C₂-C₈, cicloalquilo C₃-C₈ y haloalquilo C₁-C₈;

cada uno de R₅ y R₆ es independientemente un hidrógeno o alquilo C₁-C₈;

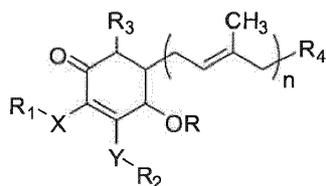
R₇ es un alquilo C₁-C₈, OR₅ o NR₅R₆;

15 m = 1-12; y

n = 1-12; o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo;

para su uso en el tratamiento o la reducción del riesgo de enfermedad neurodegenerativa en un sujeto.

En otro aspecto proporcionado en el presente documento, está la composición farmacéutica que consiste en una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de ciclohexenona que tiene la estructura:



20 , y al menos un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable,

en donde cada uno de X e Y es independientemente oxígeno, NR₅ o azufre;

R es un hidrógeno o C(=O)alquilo C₁-C₈;

cada uno de R₁, R₂ y R₃ es independientemente un hidrógeno, metilo o (CH₂)_m-CH₃;

25 R₄ es NR₅R₆, OR₅, OC(=O)R₇, C(=O)OR₅, C(=O)R₅, C(=O)NR₅R₆, halógeno, lactona de 5 o 6 miembros, alquilo C₁-C₈, alquenilo C₂-C₈, alquinilo C₂-C₈, arilo, glucosilo,

en donde la lactona de 5 o 6 miembros, alquilo C₁-C₈, alquenilo C₂-C₈, alquinilo C₂-C₈, arilo y glucosilo están opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes seleccionados de NR₅R₆, OR₅, OC(=O)R₇, C(=O)OR₅, C(=O)R₅, C(=O)NR₅R₆, alquilo C₁-C₈, alquenilo C₂-C₈, alquinilo C₂-C₈, cicloalquilo C₃-C₈ y haloalquilo C₁-C₈;

cada uno de R₅ y R₆ es independientemente un hidrógeno o alquilo C₁-C₈;

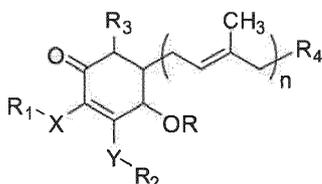
30 R₇ es un alquilo C₁-C₈, OR₅ o NR₅R₆;

m = 1-12; y

n = 1-12; o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo; para su uso en la inhibición del daño neuronal inducido por β-amiloide en el tratamiento o la reducción del riesgo de enfermedad neurodegenerativa en un sujeto.

Otro aspecto proporcionado en el presente documento es un compuesto según la reivindicación 1 para su uso en métodos para tratar la enfermedad de Alzheimer en un sujeto, que comprenden administrar al sujeto afectado por una enfermedad resultante de hiperglucemia que necesita una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición tal como se define en las reivindicaciones.

- 5 Un aspecto adicional es una composición farmacéutica, que consiste en una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de ciclohexenona que tiene la estructura:



y al menos un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable,

en donde cada uno de X e Y es independientemente oxígeno, NR₅ o azufre;

R es un hidrógeno o C(=O)alquilo C₁-C₈;

- 10 cada uno de R₁, R₂ y R₃ es independientemente un hidrógeno, metilo o (CH₂)_m-CH₃;

R₄ es NR₅R₆, OR₅, OC(=O)R₇, C(=O)OR₅, C(=O)R₅, C(=O)NR₅R₆, halógeno, lactona de 5 o 6 miembros, alquilo C₁-C₈, alqueno C₂-C₈, alquino C₂-C₈, arilo, glucosilo, en donde la lactona de 5 o 6 miembros, alquilo C₁-C₈, alqueno C₂-C₈, alquino C₂-C₈, arilo y glucosilo están opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes seleccionados de NR₅R₆, OR₅, OC(=O)R₇, C(=O)OR₅, C(=O)R₅, C(=O)NR₅R₆, alquilo C₁-C₈, alqueno C₂-C₈, alquino C₂-C₈, cicloalquilo C₃-C₈ y haloalquilo C₁-C₈;

- 15

cada uno de R₅ y R₆ es independientemente un hidrógeno o alquilo C₁-C₈;

R₇ es un alquilo C₁-C₈, OR₅ o NR₅R₆;

m = 1-12; y

- 20 n = 1-12; o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo; para su uso en el tratamiento de una enfermedad inducida por β-amiloide en un sujeto.

Breve descripción de los dibujos

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

la figura 1 muestra la viabilidad de las células PC12 tratadas con el compuesto 1 a modo de ejemplo. Se cultivaron células en condiciones de suero al 10% (A) o sin suero (B) y se trataron con diferentes concentraciones del compuesto 1 tal como se indica durante 2 días. La viabilidad celular se detectó usando Cell Counting Kit-8 (CCK-8). Las barras de error representaron la media ± DEM de dos experimentos independientes.

- 30 Las figuras 2A-D muestran resultados eficaces ilustrativos del compuesto de ciclohexenona a modo de ejemplo tal como el compuesto 1 sobre la viabilidad celular inducida por β-amiloide. Se cultivaron células PC12 en condiciones de suero al 10% (A) (B) o sin suero (C) (D) y se pretrataron con compuesto 1 (A) (C) o β-amiloide (B) (D) tal como se indica durante 24 h. La viabilidad celular se detectó utilizando CCK-8. Las barras de error representaron la media ± DEM de tres experimentos independientes. * indicó P <0,05, ** P <0,01, y *** P <0,001 en comparación con el control tratado con Aβ.
- 35

Descripción detallada de la invención

- El proceso de neurodegeneración no se comprende bien, por lo que las enfermedades que se derivan de él todavía no tienen cura. Varios agentes terapéuticos experimentales están en ensayos clínicos. En algunas realizaciones, en el presente documento se proporcionan composiciones tal como se definen en las reivindicaciones para su uso en métodos para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas mediante la administración de dichas composiciones a un sujeto (por ejemplo, un ser humano). Los compuestos de ciclohexenona proporcionan beneficios terapéuticos a un sujeto que se está tratando por enfermedades neurodegenerativas (véanse los ejemplos 1-5). Los compuestos de ciclohexenona, en algunas realizaciones, se obtienen a partir de extractos de productos naturales y proporcionan complicaciones y/o efectos secundarios reducidos. En algunas realizaciones, esta invención proporciona el potencial terapéutico y profiláctico de compuestos de ciclohexenona a modo de ejemplo (por ejemplo, el compuesto 1) para tratar o reducir el riesgo de enfermedades neurodegenerativas tales como la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson, esclerosis múltiple y esclerosis lateral amiotrófica.
- 40
- 45

El término "enfermedad (o trastorno) neurodegenerativo" tal como se usa en el presente documento se refiere a una anomalía en un mamífero en el que la integridad neuronal está amenazada. La integridad neuronal puede verse amenazada cuando las células neuronales muestran una supervivencia reducida o cuando las neuronas ya no pueden propagar una señal. Los ejemplos de procesos neurodegenerativos incluyen síndromes de accidente cerebrovascular, hemorragia subaracnoidea, disfunción cerebral después de una cirugía cerebral, trastornos del sistema nervioso debido a hipoxia, hipoglucemia, daño cerebral o espinal, intoxicación con drogas o gases, administración de quimioterapia, alcohol y similares, y los ejemplos de enfermedades neurodegenerativas incluyen la enfermedad de Alzheimer, la esclerosis lateral amiotrófica, la enfermedad de Parkinson, la miastenia grave, la encefalitis relacionada con el VIH, la espondilosis cervical, la esclerosis múltiple, el síndrome de Down y la corea de Huntington. Una clave para curar estas enfermedades es el control de la muerte neuronal, incluida la apoptosis. Los compuestos de ciclohexenona pueden administrarse sistémicamente a alguien que padezca enfermedades neurodegenerativas o a pacientes que se crea que son susceptibles a tales enfermedades.

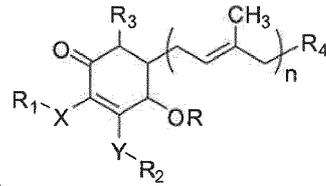
Los modelos celulares compuestos de cultivos neuronales primarios o líneas celulares similares a neuronas se usan de manera común para estudiar la muerte celular de neuronas y para someter a prueba las propiedades neuroprotectoras de compuestos específicos. Los modelos celulares son fácilmente accesibles, lo que permite la disección y la modulación de las vías de señalización involucradas en la muerte de neuronas. Debido a la dificultad relativa del estudio de la señalización en neuronas, la señalización de neurotrofina se ha estudiado principalmente utilizando las células PC12 de feocromocitoma como sistema modelo. Esta línea celular ha demostrado ser útil para estudiar los mecanismos de supervivencia neuronal, diferenciación, y muerte celular. Por ejemplo, sintetizan, almacenan y liberan dos neurotransmisores comunes: dopamina y norepinefrina. Las células PC12 liberan estos neurotransmisores en respuesta a iones de potasio, acetilcolina o nicotina, tal como lo haría una neurona. Además, las células PC12 muestran dos patrones de crecimiento. Cuando crecen como células indiferenciadas, se dividen aproximadamente cada 24-48 horas. En segundo lugar, cuando las células PC12 se exponen al factor de crecimiento nervioso (NGF), muestran un patrón de crecimiento diferente. Inicialmente, cesan la división celular. Luego, se aplanan y desarrollan largas proyecciones conocidas como neuritas. Las neuritas a menudo crecen para estar en contacto estrecho con una célula vecina, pareciéndose a una sinapsis neuronal. Si se retira el factor de crecimiento nervioso, las células PC12 finalmente volverán a su forma más o menos esférica y reanudarán la división celular (Greene *et al.*, (1999) Methodologies for the Culture and Experimental Use of the PC12 Rat Pheochromocytoma Cell Line. In: Culturing Nerve Cells G. Banker, K. Goslin eds., MIT Press, Cambridge, MA págs. 161-187) La retirada del NGF desencadena de manera similar la muerte de neuronas simpáticas tanto *in vivo* como *in vitro*.

Para optimizar la concentración del compuesto 1 a modo de ejemplo para el modelo neural PC12 inducido por NGF, se realizaron experimentos de valoración para determinar los valores de Cl_{50} del compuesto 1 en PC12. Se determina que los valores de Cl_{50} del compuesto 1 de la invención a modo de ejemplo son 57,98 $\mu\text{g/ml}$ (en medio suplementado con suero al 10%) y 13,39 $\mu\text{g/ml}$ (medio sin suero) respectivamente mediante ensayo de viabilidad celular (figura 1).

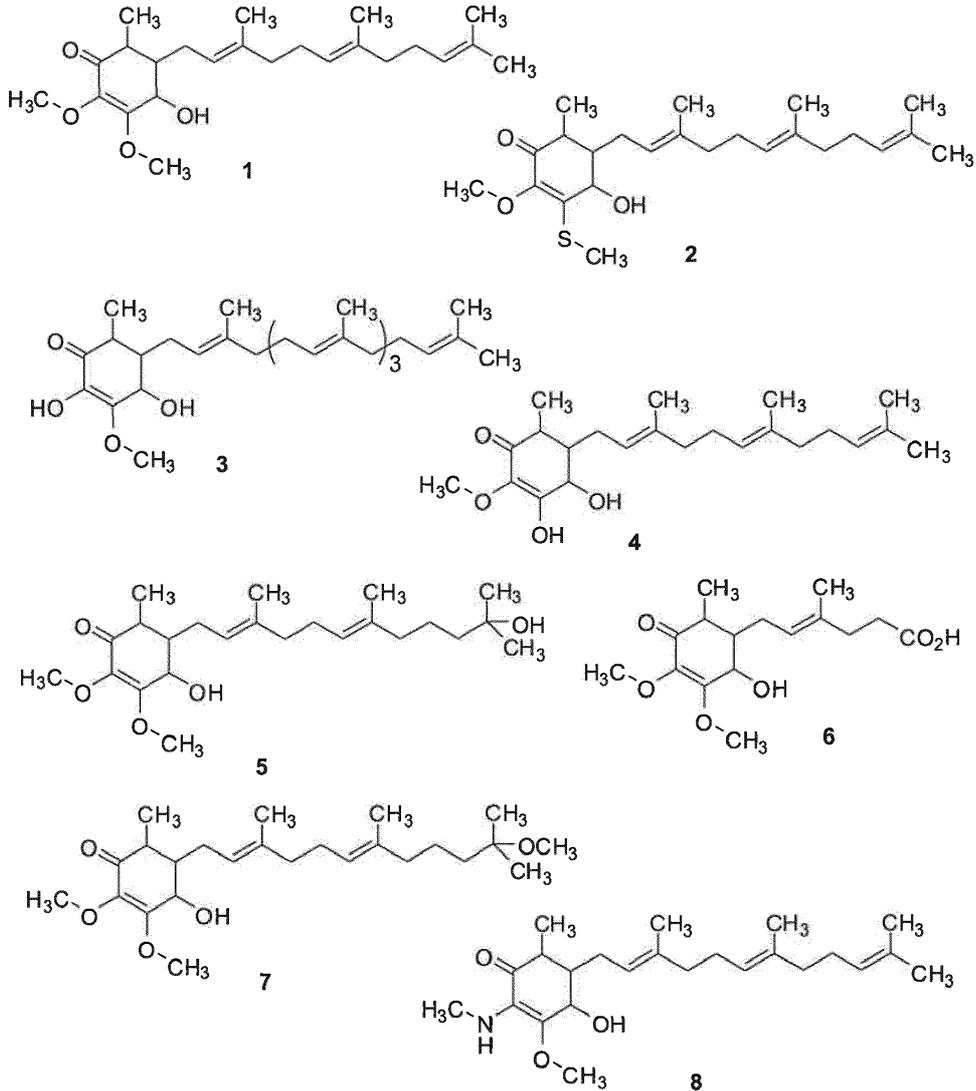
Para valorar el potencial profiláctico del compuesto de ciclohexenona (es decir, el compuesto 1) se pretrataron las células PC12 inducidas por NGF con diferentes concentraciones de compuesto 1 (25 y 50 $\mu\text{g/ml}$ en medio suplementado con suero al 10%; 0,3 y 3 $\mu\text{g/ml}$ en medio sin suero) y luego se expusieron a β -amiloide ($A\beta$) 10 μM antes de la determinación de la viabilidad celular. Los resultados de viabilidad celular indican que el compuesto 1 a modo de ejemplo muestra un impacto significativo en la prevención (reducción del riesgo de) de células de daño neuronal inducido por $A\beta$ en suero o en condiciones de cultivo sin suero (figuras 2A y 2C). Se realizó el experimento similar para valorar el efecto terapéutico del compuesto 1. Se pretrataron células PC 12 con $A\beta$ 10 μM durante 24 h en medio con suero y sin suero por separado en primer lugar, y luego se expusieron a diferentes concentraciones de compuesto 1 antes de la determinación de la viabilidad celular. Los resultados muestran que el tratamiento con compuesto 1 en dosis baja inhibe drásticamente el daño inducido por $A\beta$ y mejora la viabilidad celular (figura 2B y 2D).

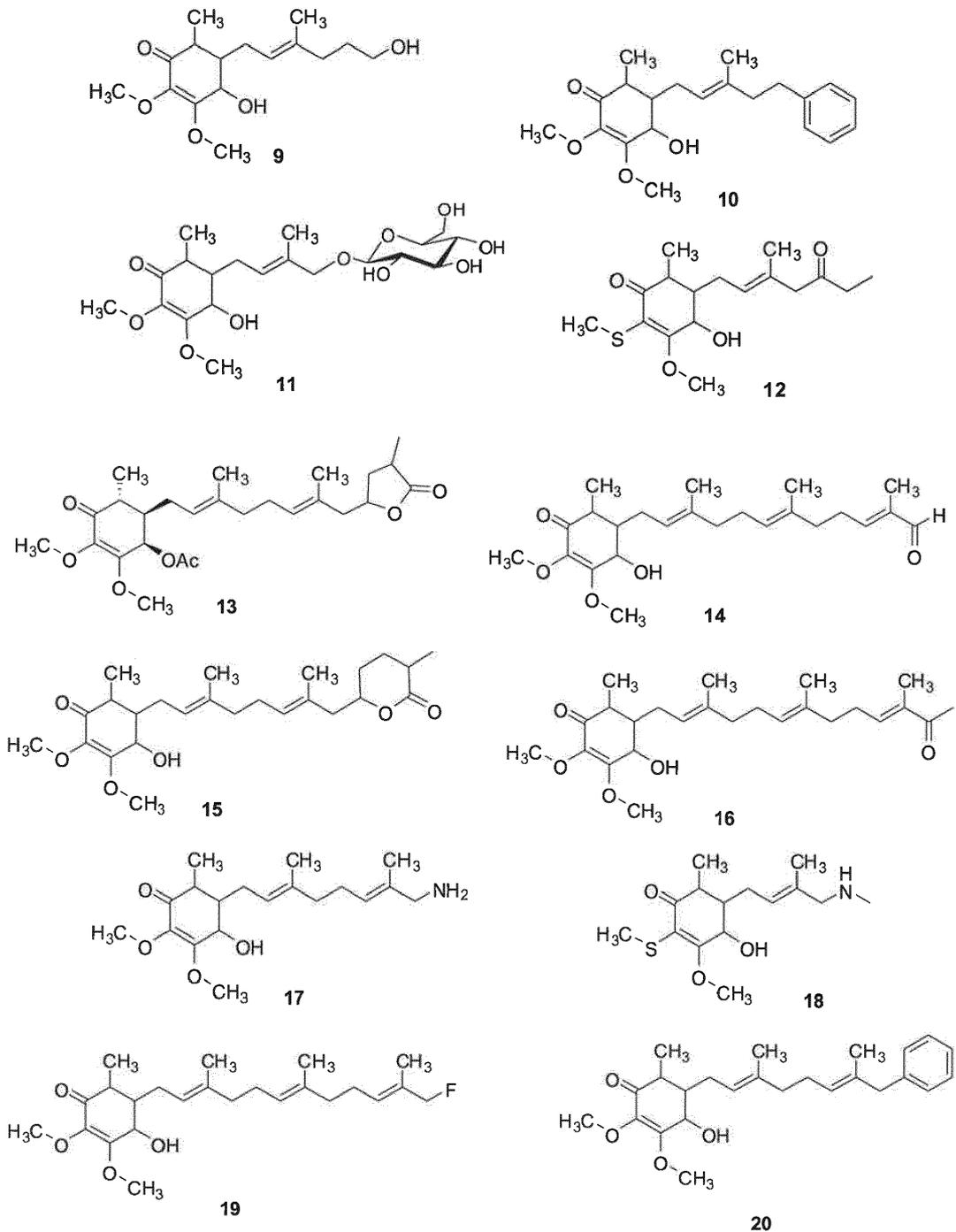
Claramente, los compuestos de ciclohexenona a modo de ejemplo, tales como el compuesto 1, muestran eficacia terapéutica y profiláctica en el modelo neural PC12 inducido por NGF. Por lo tanto, los compuestos de ciclohexenona proporcionados en el presente documento, tales como el compuesto 1 son útiles para prevenir o tratar enfermedades neurodegenerativas tal como se define en las reivindicaciones.

En algunas realizaciones, los compuestos se usan en métodos para inhibir el daño neuronal inducido por β -amiloide en un sujeto. En algunas realizaciones, la enfermedad neurodegenerativa se selecciona del grupo que consiste en enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, esclerosis múltiple y esclerosis lateral amiotrófica. En determinadas realizaciones, la enfermedad neurodegenerativa es la enfermedad de Alzheimer. En algunas realizaciones, el compuesto de ciclohexenona inhibe el daño neuronal inducido por β -amiloide en un sujeto. En algunas realizaciones, el sujeto es humano. Véanse los ejemplos 2-5.

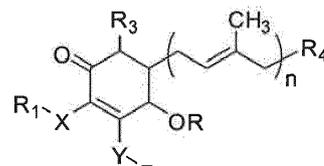


5 El compuesto de ciclohexenona que tiene la estructura puede prepararse sintética o semisintéticamente a partir de cualquier producto de partida adecuado. El compuesto de ciclohexenona también puede prepararse mediante fermentación, o similar. Por ejemplo, el compuesto 1 (también conocido como Antroquinol™ o "Antroq") o el compuesto 3, en algunos casos, se prepara a partir de 4-hidroxi-2,3-dimetoxi-6-metilciclohexa-2,5-dienona. A continuación se ilustran compuestos a modo de ejemplo.





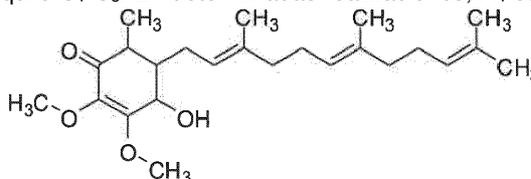
5



El compuesto de ciclohexenona que tiene la estructura también puede aislarse a partir de los extractos de disolventes orgánicos de *Antrodia camphorata*. El disolvente orgánico puede seleccionarse de alcoholes (por ejemplo, metanol, etanol, propanol, o similares), ésteres (por ejemplo, acetato de metilo, acetato de etilo, o similares), alcanos (por ejemplo, pentano, hexano, heptano, o similares), alcanos halogenados (por ejemplo, clorometano, cloroetano, cloroformo, cloruro de metileno, y similares), y similares. Por ejemplo, los compuestos 1-7 a modo de ejemplo se aíslan de extractos de disolventes orgánicos. El disolvente orgánico puede ser alcohol, por ejemplo etanol. El compuesto de ciclohexenona también puede aislarse a partir de los extractos acuosos de *Antrodia camphorata*.

10

En algunas realizaciones, R es un hidrógeno, C(=O)C₃H₈, C(=O)C₂H₅, o C(=O)CH₃. En algunas realizaciones, R₁ es un hidrógeno o metilo. En determinadas realizaciones, R₂ es un hidrógeno, metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo o hexilo. En algunas realizaciones, R₃ es un hidrógeno, metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo o hexilo. En algunas realizaciones, R₄ es halógeno, NH₂, NHCH₃, N(CH₃)₂, OCH₃, OC₂H₅, C(=O)CH₃, C(=O)C₂H₅, C(=O)OCH₃, C(=O)OC₂H₅, C(=O)NHCH₃, C(=O)NHC₂H₅, C(=O)NH₂, OC(=O)CH₃, OC(=O)C₂H₅, OC(=O)OCH₃, OC(=O)OC₂H₅, OC(=O)NHCH₃, OC(=O)NHC₂H₅, o OC(=O)NH₂. En algunas realizaciones, R₄ es C₂H₅C(CH₃)₂OH, C₂H₅C(CH₃)₂OCH₃, CH₂COOH, C₂H₅COOH, CH₂OH, C₂H₅OH, CH₂Ph, C₂H₅Ph, CH₂CH=C(CH₃)(CHO), CH₂CH=C(CH₃)(C(=O)CH₃), lactona de 5 o 6 miembros, alquilo C₁-C₈, alqueno C₂-C₈, alquino C₂-C₈, arilo, y glucosilo, en donde la lactona de 5 o 6 miembros, alquilo C₁-C₈, alqueno C₂-C₈, alquino C₂-C₈, arilo y glucosilo están opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes seleccionados de NR₅R₆, OR₅, OC(=O)R₇, C(=O)OR₅, C(=O)R₅, C(=O)NR₅R₆, alquilo C₁-C₈, alqueno C₂-C₈, alquino C₂-C₈, cicloalquilo C₃-C₈ y haloalquilo C₁-C₈. En determinadas realizaciones, R₄ es CH₂CH=C(CH₃)₂.



En determinadas realizaciones, el compuesto es

En algunas realizaciones, los compuestos de ciclohexenona se usan en métodos para tratar una enfermedad inducida por β -amiloide en un sujeto, que comprende administrar al sujeto afectado por una enfermedad resultante de hiperglucemia que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición tal como se define en las reivindicaciones.

En algunas realizaciones, la enfermedad inducida por β -amiloide es la enfermedad de Alzheimer o el síndrome de Down. En determinadas realizaciones, el sujeto es humano.

Determinada terminología farmacéutica y médica

A menos que se indique de otro modo, los siguientes términos utilizados en esta solicitud, que incluye la memoria descriptiva y las reivindicaciones, tienen las definiciones que se dan a continuación. Debe señalarse que, tal como se usa en la memoria descriptiva y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "una" y "el/la" incluyen referentes plurales a menos que el contexto lo indique claramente de otro modo. A menos que se indique de otro modo, se emplean métodos convencionales de espectroscopía de masas, RMN, HPLC, química de proteínas, bioquímica, técnicas de ADN recombinante y farmacología. En esta solicitud, el uso de "o" o "y" significa "y/o" a menos que se indique de otro modo. Además, el uso del término "que incluye" así como otras formas, tales como "incluyen", "incluye" e "incluido" no es limitante. Los encabezados de sección utilizados en el presente documento son solo con fines organizativos y no deben interpretarse como limitantes de la materia descrita.

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

El grupo "alquilo" puede tener de 1 a 12 átomos de carbono (siempre que aparezca en el presente documento, un intervalo numérico tal como "de 1 a 12 se refiere a cada número entero en el intervalo dado; por ejemplo, "de 1 a 12 átomos de carbono" significa que el grupo alquilo puede consistir en 1 átomo de carbono, 2 átomos de carbono, 3 átomos de carbono, etc. hasta e incluyendo 12 átomos de carbono, aunque la presente definición también cubre la aparición del término "alquilo" donde no se designa ningún intervalo numérico). El grupo alquilo de los compuestos descritos en el presente documento puede designarse como "alquilo C₁-C₈" o designaciones similares. Solo a modo de ejemplo, "alquilo C₁-C₈" indica que hay uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete u ocho átomos de carbono en la cadena alquílica. En un aspecto, el alquilo se selecciona del grupo que consiste en metilo, etilo, propilo, iso-propilo, n-butilo, iso-butilo, sec-butilo y t-butilo. Los grupos alquilo típicos incluyen, pero de ninguna manera se limitan a, metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec-butilo, butilo terciario, pentilo, neopentilo, hexilo, alilo, but-2-enilo, but-3-enilo, ciclopropilmetilo, ciclobutilmetilo, ciclopentilmetilo, ciclohexilmetilo, y similares. En un aspecto, un alquilo es un alquilo C₁-C₈.

El término "alquileo" se refiere a un radical alquílico divalente. Cualquiera de los grupos alquilo monovalentes mencionados anteriormente puede ser un alquileo por extracción de un segundo átomo de hidrógeno del alquilo. En un aspecto, un alquileo es un alquileo C₁-C₁₂. En otro aspecto, un alquileo es un alquileo C₁-C₈. Los grupos alquileo típicos incluyen, pero no se limitan a, -CH₂-, -CH(CH₃)-, -C(CH₃)₂-, -CH₂CH₂-, -CH₂CH(CH₃)-, -CH₂C(CH₃)₂-, -CH₂CH₂CH₂-, -CH₂CH₂CH₂CH₂-, y similares.

Tal como se usa en el presente documento, el término "arilo" se refiere a un anillo aromático en donde cada uno de los átomos que forman el anillo es un átomo de carbono. Los anillos de arilo están formados por cinco, seis, siete, ocho, nueve o más de nueve átomos de carbono. Los grupos arilo están opcionalmente sustituidos. En un aspecto,

un arilo es un fenilo o un naftalenilo. En un aspecto, un arilo es un fenilo. En un aspecto, un arilo es un arilo C₆-C₁₀. Dependiendo de la estructura, un grupo arilo puede ser un monorrádical o un dirradical (es decir, un grupo arileno). En un aspecto, un arileno es un arileno C₆-C₁₀. Los ejemplos de arilenos incluyen, pero no se limitan a, fenil-1,2-eno, fenil-1,3-eno y fenil-1,4-eno.

- 5 El término "aromático" se refiere a un anillo plano que tiene un sistema de electrones π deslocalizados que contiene $4n+2$ electrones π , donde n es un número entero. Los anillos aromáticos pueden formar a partir de cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez o más de diez átomos. Los compuestos aromáticos están opcionalmente sustituidos. El término "aromático" incluye tanto grupos arilo carbocíclicos ("arilo", por ejemplo, fenilo) como arilo heterocíclicos (o "heteroarilo" o "heteroaromáticos") (por ejemplo, piridina). El término incluye grupos monocíclicos o policíclicos de anillos fusionados (es decir, anillos que comparten pares adyacentes de átomos de carbono).

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

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

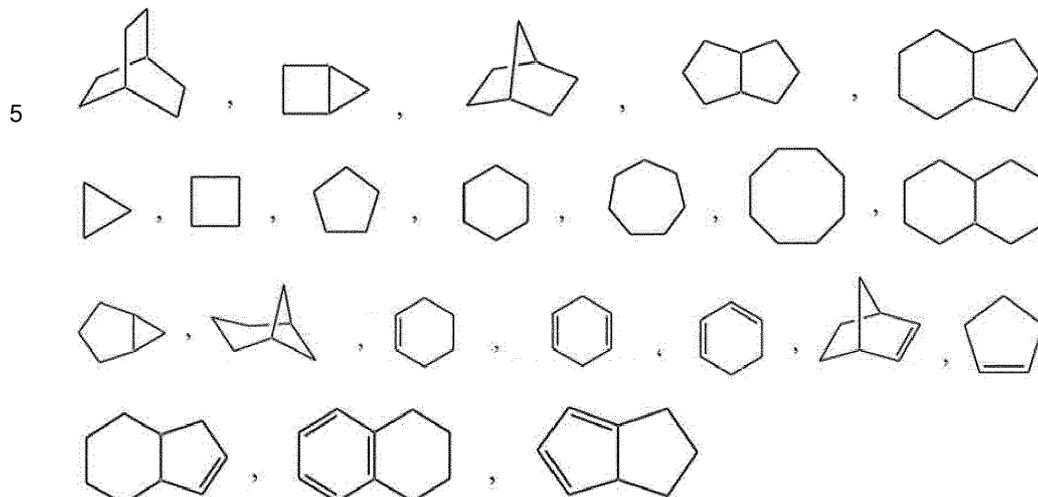
- 20 El término "heterociclo" o "heterocíclico" se refiere a anillos heteroaromáticos (también conocidos como heteroarilos) y anillos de heterocicloalquilo (también conocidos como grupos heteroalíclicos) que contienen de uno a cuatro heteroátomos en el/los anillo(s), donde cada heteroátomo en el/los anillo(s) se selecciona de O, S y N, en donde cada grupo heterocíclico tiene de desde 4 hasta 10 átomos en su sistema de anillos, y con la condición de que ningún anillo contenga dos átomos de O o S adyacentes. Los grupos heterocíclicos no aromáticos (también conocidos como heterocicloalquilos) incluyen grupos que tienen solo 3 átomos en su sistema de anillos, pero los grupos heterocíclicos aromáticos deben tener al menos 5 átomos en su sistema de anillos. Los grupos heterocíclicos incluyen sistemas de anillos benzofusionados. Un ejemplo de un grupo heterocíclico de 3 miembros es aziridinilo. Un ejemplo de un grupo heterocíclico de 4 miembros es azetidínilo. Un ejemplo de un grupo heterocíclico de 5 miembros es el tiazolilo. Un ejemplo de un grupo heterocíclico de 6 miembros es piridilo, y un ejemplo de un grupo heterocíclico de 10 miembros es quinolinilo. Son ejemplos de grupos heterocíclicos no aromáticos pirrolidinilo, tetrahydrofuranilo, dihydrofuranilo, tetrahydrotienilo, oxazolidinonilo, tetrahydropiranilo, dihydropiranilo, tetrahydrotiopiranilo, piperidinilo, morfolinilo, tiomorfolinilo, tioanilo, piperazinilo, aziridinilo, azetidínilo, oxetanilo, tietanilo, homopiperidinilo, oxepanilo, tiepanilo, oxazepínilo, diazepínilo, tiazepínilo, 1,2,3,6-tetrahydropiridinilo, pirrolin-2-ilo, pirrolin-3-ilo, indolinilo, 2H-piranilo, 4H-piranilo, dioxanilo, 1,3-dioxolanilo, pirazolinilo, ditianilo, ditiolanilo, dihydropiranilo, dihydrotienilo, dihydrofuranilo, pirazolidinilo, imidazolinilo, imidazolidinilo, 3-azabicyclo[3.1.0]hexanilo, 3-azabicyclo[4.1.0]heptanilo, 3H-indolilo y quinolizínilo. Son ejemplos de grupos heterocíclicos aromáticos piridinilo, imidazolilo, pirimidinilo, pirazolilo, triazolilo, pirazinilo, tetrazolilo, furilo, tienilo, isoxazolilo, tiazolilo, oxazolilo, isotiazolilo, pirrolilo, quinolinilo, isoquinolinilo, indolilo, bencimidazolilo, benzofuranilo, cinolinilo, indazolilo, indolizínilo, ftalazinilo, piridazinilo, triazinilo, isoindolilo, pteridinilo, purínilo, oxadiazolilo, tiadiazolilo, furazanilo, benzofurazanilo, benzotiazolilo, benzoxazolilo, quinazolinilo, quinoxalinilo, naftiridilo, y furopiridinilo. Los grupos anteriores pueden estar unidos a C o unidos a N donde eso sea posible. Por ejemplo, un grupo derivado de pirrol puede ser pirrol-1-ilo (unido a N) o pirrol-3-ilo (unido a C). Además, un grupo derivado de imidazol puede ser imidazol-1-ilo o imidazol-3-ilo (ambos unidos a N) o imidazol-2-ilo, imidazol-4-ilo o imidazol-5-ilo (todos unidos a C). Los grupos heterocíclicos incluyen sistemas de anillos benzofusionados. Los heterociclos no aromáticos pueden estar sustituidos con uno o dos restos oxo (=O), tal como pirrolidin-2-ona.

- 45 El término "alquenilo", tal como se usa en el presente documento, significa un hidrocarburo de cadena lineal, ramificada, o cíclico (en cuyo caso, también se conocería como un "cicloalquenilo") que contiene desde 2-10 carbonos y que contiene al menos un doble enlace carbono-carbono formado por la eliminación de dos hidrógenos. En algunas realizaciones, dependiendo de la estructura, un grupo alquenilo es un monorrádical o un dirradical (es decir, un grupo alquenileno). En algunas realizaciones, los grupos alquenilo están opcionalmente sustituidos. Los ejemplos ilustrativos de alquenilo incluyen, pero no se limitan a, etenilo, 2-propenilo, 2-metil-2-propenilo, 3-butenilo, 4-pentenilo, 5-hexenilo, 2-heptenilo, 2-metil-1-heptenilo, y 3-ecenilo.

- 50 El término "alquinilo", tal como se usa en el presente documento, significa un hidrocarburo de cadena lineal, ramificada, o cíclico (en cuyo caso, también se conocería como un "cicloalquinilo") que contiene desde 2-10 carbonos y que contiene al menos un triple enlace carbono-carbono formado por la eliminación de cuatro hidrógenos. En algunas realizaciones, dependiendo de la estructura, un grupo alquinilo es un monorrádical o un dirradical (es decir, un grupo alquinileno). En algunas realizaciones, los grupos alquinilo están opcionalmente sustituidos. Los ejemplos ilustrativos de alquinilo incluyen, pero no se limitan a, etinilo, propínilo, butínilo, pentínilo, hexínilo, heptínilo, y similares.

- 55 El término "alcoxilo", tal como se usa en el presente documento, significa un grupo alquilo, tal como se define en el presente documento, unido al resto molecular principal a través de un átomo de oxígeno. Los ejemplos ilustrativos de alcoxilo incluyen, pero no se limitan a, metoxilo, etoxilo, propoxilo, 2-propoxilo, butoxilo, terc-butoxilo, pentiloxilo y hexiloxilo.

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



En algunas realizaciones, dependiendo de la estructura, un grupo cicloalquilo es un monorradicical o un dirradical (por ejemplo, un grupo cicloalquileno).

- 10 Los términos "haloalquilo", "haloalqueno", "haloalquino" y "haloalcoxilo", tal como se usan en el presente documento, incluyen estructuras de alquilo, alqueno, alquino y alcoxilo en las que se reemplaza al menos un hidrógeno con un átomo de halógeno. En determinadas realizaciones en las que se reemplazan dos o más átomos de hidrógeno con átomos de halógeno, los átomos de halógeno son todos iguales entre sí. En otras realizaciones en las que se reemplazan dos o más átomos de hidrógeno con átomos de halógeno, los átomos de halógeno no son todos iguales entre sí. Los términos "fluoroalquilo" y "fluoroalcoxilo" incluyen grupos haloalquilo y haloalcoxilo, respectivamente, en los que el halo es flúor. En determinadas realizaciones, los compuestos de haloalquilo están opcionalmente sustituidos.

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

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

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

El término "portador", tal como se usa en el presente documento, se refiere a compuestos o agentes químicos relativamente no tóxicos que facilitan la incorporación de un compuesto en células o tejidos.

- 30 Los términos "coadministración" o similares, tal como se usan en el presente documento, pretenden abarcar la administración de los agentes terapéuticos seleccionados a un solo paciente, y pretenden incluir pautas de tratamiento en los que los agentes se administran por la misma o diferente vía de administración o al mismo o diferente tiempo.

- 35 El término "diluyente" se refiere a compuestos químicos que se usan para diluir el compuesto de interés antes del suministro. También pueden usarse diluyentes para estabilizar compuestos ya que pueden proporcionar un entorno más estable. Las sales disueltas en soluciones tamponadas (que también pueden proporcionar control o mantenimiento del pH) se utilizan como diluyentes en la técnica, incluyendo, pero sin limitarse a, una solución salina tamponada con fosfato.

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

Los términos "potenciar" o "que potencia", tal como se usan en el presente documento, significan aumentar o prolongar un efecto deseado o bien en potencia o bien en duración. Por lo tanto, con respecto a potenciar el efecto de los agentes terapéuticos, el término "que potencia" se refiere a la capacidad de aumentar o prolongar, ya sea en potencia o duración, el efecto de otros agentes terapéuticos en un sistema. Una "cantidad eficaz potenciadora", tal como se usa en el presente documento, se refiere a una cantidad adecuada para potenciar el efecto de otro agente terapéutico en un sistema deseado.

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

El término "combinación farmacéutica", tal como se usa en el presente documento, significa un producto que resulta de la mezcla o combinación de más de un principio activo e incluye combinaciones tanto fijas como no fijas de los principios activos. El término "combinación fija" significa que los principios activos, por ejemplo un compuesto (es decir, un compuesto de ciclohexenona descrito en el presente documento) y un coagente, se administran ambos a un paciente simultáneamente en forma de una entidad o dosificación única. El término "combinación no fija" significa que los principios activos, por ejemplo un compuesto (es decir, un compuesto de ciclohexenona descrito en el presente documento) y un coagente, se administran a un paciente como entidades por separado, ya sea simultánea, concurrente o secuencialmente sin límites de tiempo intermedios específicos, en donde dicha administración proporciona niveles eficaces de los dos compuestos en cuerpo del paciente. Esto último también se aplica a la terapia de cóctel, por ejemplo, la administración de tres o más principios activos.

El término "composición farmacéutica" se refiere a una composición que consiste en una cantidad terapéuticamente eficaz de una ciclohexenona tal como se define en las reivindicaciones y al menos un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable tal como estabilizantes, agentes dispersantes, agentes de suspensión y/o agentes espesantes. La composición farmacéutica facilita la administración del compuesto a un organismo. Existen múltiples técnicas de administración de un compuesto en la técnica que incluyen, pero no se limitan a: administración intravenosa, oral, en aerosol, parenteral, oftálmica, pulmonar y tópica.

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

Los términos "tratar", "que trata" o "tratamiento", tal como se usan en el presente documento, incluyen aliviar, disminuir o mitigar al menos un síntoma de una enfermedad o afección, prevenir síntomas adicionales, inhibir la enfermedad o afección, por ejemplo, obstaculizar el desarrollo de la enfermedad o afección, atenuar la enfermedad o afección, provocar el retroceso de la enfermedad o afección, atenuar una afección causada por la enfermedad o afección, o detener los síntomas de la enfermedad o afección, ya sea profiláctica y/o terapéuticamente.

45 Vías de administración y dosificación

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

En determinadas realizaciones, una composición tal como se describe en el presente documento se administra de una manera local en lugar de sistémica, por ejemplo, a través de la inyección del compuesto directamente en un órgano, a menudo en una preparación depot o una formulación de liberación sostenida. En realizaciones específicas, las formulaciones de acción prolongada se administran mediante implantación (por ejemplo, por vía subcutánea o intramuscular) o mediante inyección intramuscular. Además, en otras realizaciones, el fármaco se suministra en un sistema de suministro de fármaco dirigido, por ejemplo, en un liposoma recubierto con anticuerpo específico de un órgano. En tales realizaciones, los liposomas se dirigen a y se recogen selectivamente por el órgano. En aun otras realizaciones, el compuesto tal como se describe en el presente documento se proporciona en forma de una formulación de liberación rápida, en forma de una formulación de liberación prolongada o en forma de una formulación

de liberación intermedia. En aun otras realizaciones, el compuesto descrito en el presente documento se administra por vía tópica.

En algunas realizaciones, la composición se administra por vía parenteral o intravenosa. En otras realizaciones, la composición se administra mediante inyección. En algunas realizaciones, la composición se administra por vía oral.

- 5 En el caso en donde la afección del paciente no mejore, a discreción del médico, la composición puede administrarse de manera crónica, es decir, durante un período prolongado de tiempo, incluyendo durante toda la vida del paciente con el fin de mitigar o controlar o limitar de otro modo los síntomas de la enfermedad o afección del paciente. En el caso en donde la afección del paciente mejore, a discreción del médico, la administración de los compuestos puede proporcionarse de manera continua o temporal suspendida durante un determinado período de tiempo (es decir, unas "vacaciones del fármaco").

10 Los intervalos anteriores son meramente orientativos, ya que el número de variables con respecto a una pauta de tratamiento individual es grande, y no son raras las variaciones considerables de estos valores recomendados. Dichas dosificaciones pueden alterarse dependiendo de una serie de variables, no limitadas a la actividad del compuesto utilizado, la enfermedad o afección que va a tratarse, el modo de administración, los requisitos del sujeto individual, la gravedad de la enfermedad o afección que se trata, y el juicio del médico.

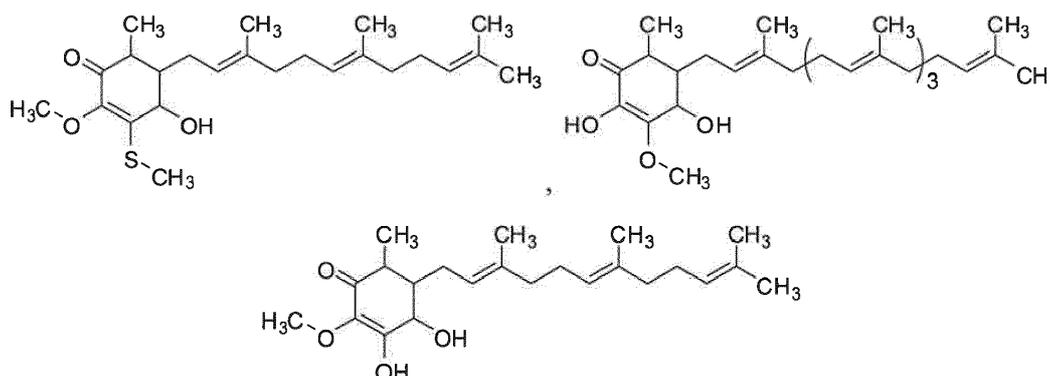
15 La toxicidad y la eficacia terapéutica de dichas pautas posológicas pueden determinarse mediante procedimientos farmacéuticos convencionales en cultivos celulares o animales experimentales, que incluyen, pero no se limitan a, la determinación de la DL₅₀ (la dosis letal para el 50% de la población) y la DE₅₀ (la dosis terapéuticamente eficaz en el 50% de la población). La razón de dosis entre los efectos tóxicos y terapéuticos es el índice terapéutico y puede expresarse como la razón entre DL₅₀ y DE₅₀. Se prefieren compuestos que muestran altos índices terapéuticos. Los datos obtenidos de ensayos en cultivos celulares y estudios en animales pueden usarse para formular un intervalo de dosificación para su uso en seres humanos. La dosificación de tales compuestos se encuentra preferiblemente dentro de un intervalo de concentraciones circulantes que incluyen la DE₅₀ con toxicidad mínima. La dosificación puede variar dentro de este intervalo dependiendo de la forma farmacéutica empleada y la vía de administración utilizada.

25 Formulación Farmacéutica

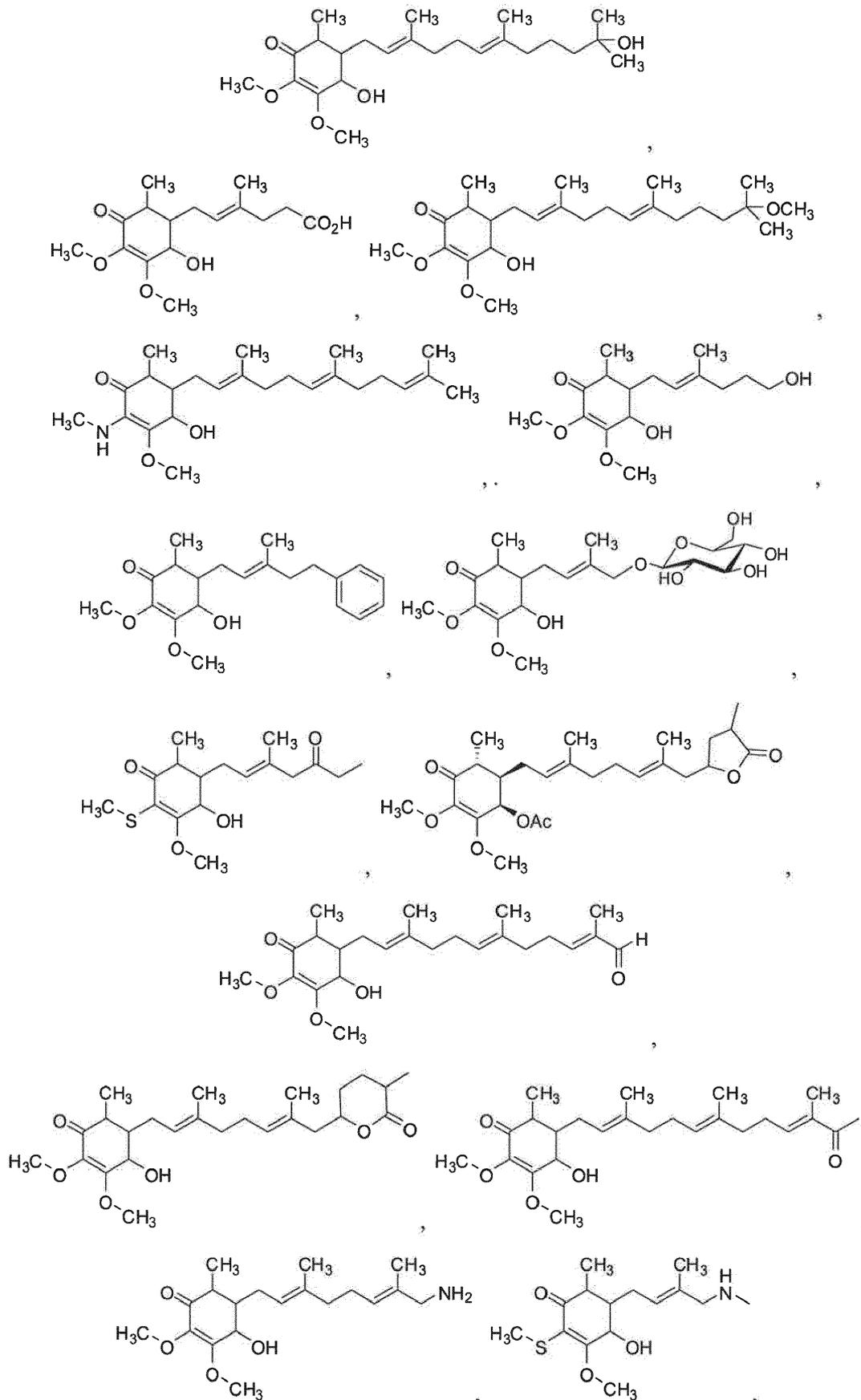
Las composiciones farmacéuticas para su uso según la invención se definen en las reivindicaciones.

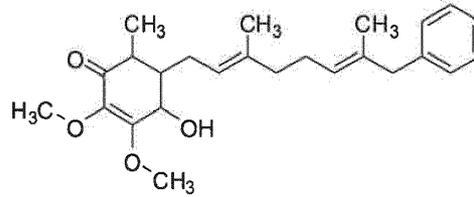
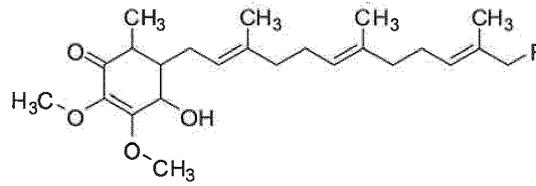
En algunas realizaciones, R es un hidrógeno, C(=O)C₃H₈, C(=O)C₂H₅ o C(=O)CH₃. En algunas realizaciones, cada uno de R₁, R₂ y R₃ es independientemente un hidrógeno, metilo, etilo, propilo, butilo, pentilhexilo, heptilo u octilo. En determinadas realizaciones, R₁ es un hidrógeno o metilo. En determinadas realizaciones, R₂ es un hidrógeno, metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo o hexilo. En determinadas realizaciones, R₃ es un hidrógeno, metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo o hexilo. En algunas realizaciones, R₄ es halógeno, NH₂, NHCH₃, N(CH₃)₂, OCH₃, OC₂H₅, C(=O)CH₃, C(=O)C₂H₅, C(=O)OCH₃, C(=O)OC₂H₅, C(=O)NHCH₃, C(=O)NHC₂H₅, C(=O)NH₂, OC(=O)CH₃, OC(=O)C₂H₅, OC(=O)OCH₃, OC(=O)OC₂H₅, OC(=O)NHCH₃, OC(=O)NHC₂H₅, o OC(=O)NH₂. En determinadas realizaciones, R₄ es C₂H₅C(CH₃)₂OH, C₂H₅C(CH₃)₂OCH₃, CH₂COOH, C₂H₅COOH, CH₂OH, C₂H₅OH, CH₂Ph, C₂H₅Ph, CH₂CH=C(CH₃)(CHO), CH₂CH=C(CH₃)(C(=O)CH₃), lactona de 5 o 6 miembros, arilo o glucosilo, en donde la lactona de 5 o 6 miembros, arilo y glucosilo están opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes seleccionados de NR₅R₆, OR₅, OC(=O)R₇, C(=O)OR₅, C(=O)R₅, C(=O)NR₅R₆, alquilo C₁-C₈, alqueno C₂-C₈, alquino C₂-C₈, cicloalquilo C₃-C₈ y haloalquilo C₁-C₈. En determinadas realizaciones, R₄ es CH₂COOH, C₂H₅COOH, CH₂OH, C₂H₅OH, CH₂Ph, C₂H₅Ph, CH₂CH=C(CH₃)(CHO), CH₂CH=C(CH₃)(C(=O)CH₃), alquilo C₁-C₈, lactona de 5 o 6 miembros, arilo o glucosilo, en donde la lactona de 5 o 6 miembros, alquilo C₁-C₈, arilo y glucosilo están opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes seleccionados de NR₅R₆, OR₅, OC(=O)R₇, C(=O)OR₅, C(=O)R₅, C(=O)NR₅R₆, alquilo C₁-C₈, alqueno C₂-C₈, alquino C₂-C₈, cicloalquilo C₃-C₈ y haloalquilo C₁-C₈.

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

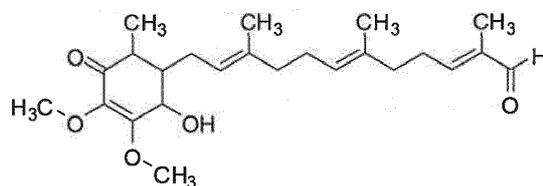
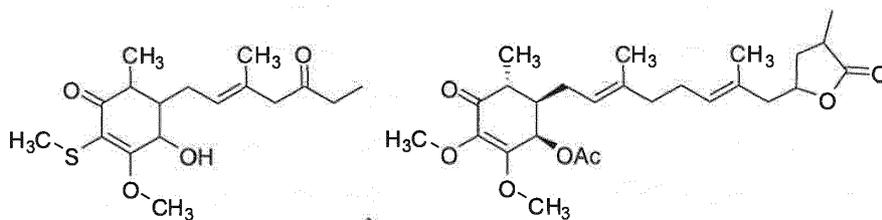
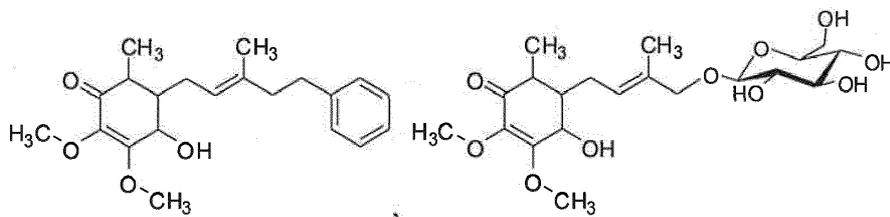
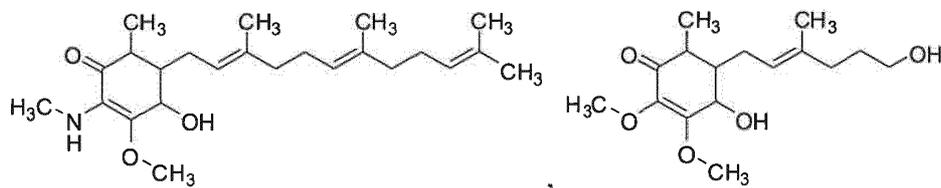
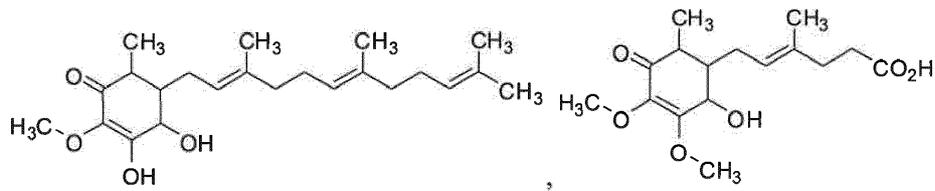
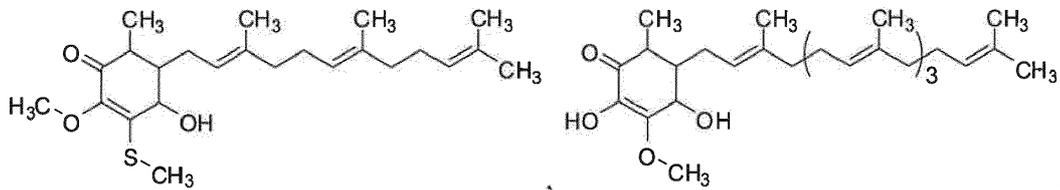


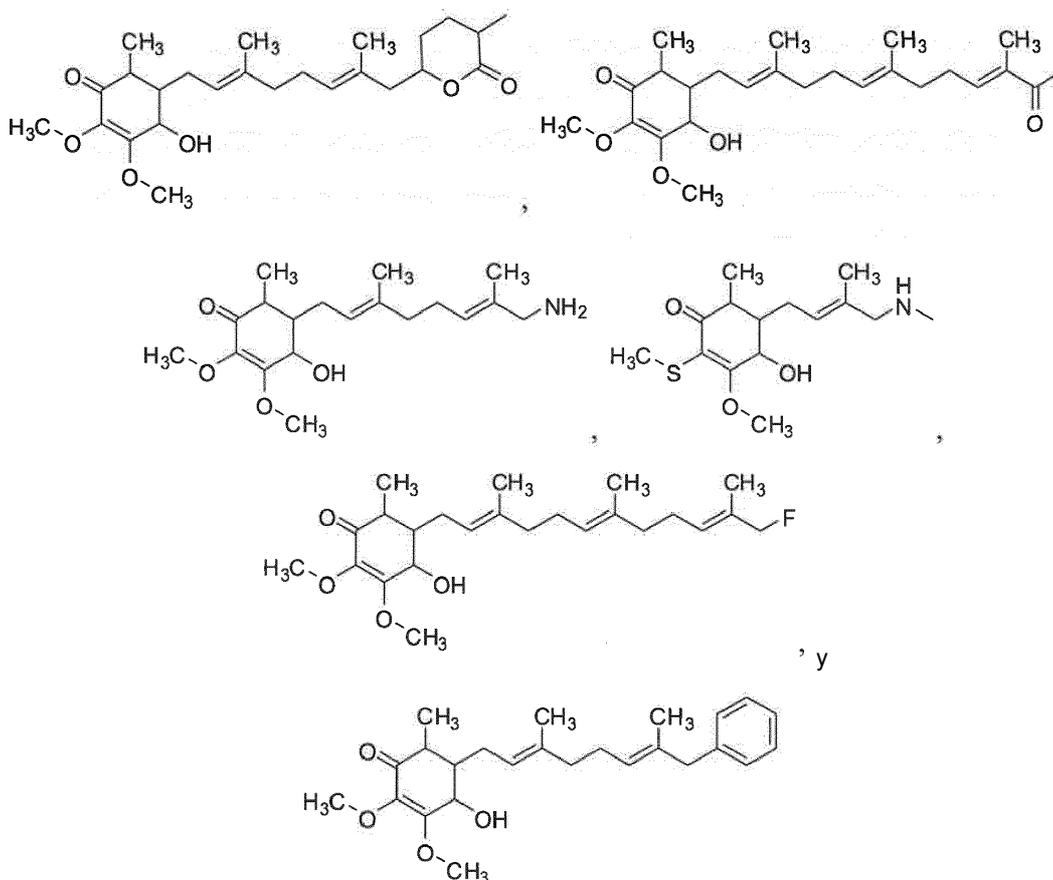
45





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





- 5 Los compuestos descritos en el presente documento se formulan en composiciones farmacéuticas. En realizaciones específicas, las composiciones farmacéuticas se formulan de manera convencional usando uno o más portadores fisiológicamente aceptables que comprenden excipientes y auxiliares que facilitan el procesamiento de los compuestos activos en preparaciones que pueden usarse farmacéuticamente. La formulación adecuada depende de la vía de administración elegida. Cualquier técnica, portador y excipiente farmacéuticamente aceptable se usa tal como sea
- 10 adecuado para formular las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento: Remington: The Science and Practice of Pharmacy, decimonovena edición (Easton, Pa.: Mack Publishing Company, 1995); Hoover, John E., Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pensilvania 1975; Liberman, H.A. y Lachman, L., Eds., Pharmaceutical Dosage Forms, Marcel Decker, Nueva York, N.Y., 1980; y Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Séptima Ed. (Lippincott Williams & Wilkins, 1999).
- 15 En el presente documento se proporcionan composiciones farmacéuticas tal como se define en las reivindicaciones.
1. Una composición farmacéutica, tal como se usa en el presente documento, se refiere a una composición farmacéutica que consiste en una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de ciclohexenona tal como se define en las reivindicaciones, y al menos un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable, tal como estabilizantes, agentes dispersantes, agentes de suspensión y/o agentes espesantes. En determinadas realizaciones,
- 20 la composición farmacéutica facilita la administración del compuesto a un organismo. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica es para la administración a un mamífero que tiene una enfermedad o afección que va a tratarse. En realizaciones específicas, el mamífero es un ser humano. En determinadas realizaciones, las cantidades terapéuticamente eficaces varían dependiendo de la gravedad de la enfermedad, la edad y la salud relativa del sujeto, la potencia del compuesto utilizado y otros factores.
- 25 En una realización, un compuesto de ciclohexenona descrito en el presente documento se formula en una disolución acuosa. En realizaciones específicas, la disolución acuosa se selecciona, a modo de ejemplo solamente, de un tampón fisiológicamente compatible, tal como solución de Hank, solución de Ringer o tampón salino fisiológico. En otras realizaciones, un compuesto (es decir, un compuesto de ciclohexenona descrito en el presente documento) se formula para administración por vía transmucosa. En realizaciones específicas, las formulaciones transmucosales incluyen
- 30 penetrantes que son apropiados para la barrera que se va a permear. En todavía otras realizaciones en donde los compuestos descritos en el presente documento están formulados para otras inyecciones parenterales, las formulaciones apropiadas incluyen disoluciones acuosas o no acuosas. En realizaciones específicas, tales disoluciones incluyen tampones y/o excipientes fisiológicamente compatibles.

En otra realización, los compuestos descritos en el presente documento se formulan para administración oral. Los compuestos descritos en el presente documento se formulan combinando el compuesto activo con, por ejemplo, portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables. En diversas realizaciones, los compuestos descritos en el presente documento se formulan en formas farmacéuticas orales que incluyen, a modo de ejemplo solamente, comprimidos, polvos, píldoras, grageas, cápsulas, líquidos, geles, jarabes, elixires, pastas, suspensiones y similares.

En determinadas realizaciones, las preparaciones farmacéuticas para su uso oral se obtienen mezclando uno o más excipientes sólidos con uno o más de los compuestos descritos en el presente documento, opcionalmente moliendo la mezcla resultante, y procesando la mezcla de gránulos, tras añadir auxiliares adecuados, si se desea, para obtener núcleos de comprimidos o de grageas. Son excipientes adecuados, en particular, cargas tales como azúcares, incluyendo lactosa, sacarosa, manitol o sorbitol; preparaciones de celulosa tales como: por ejemplo, almidón de maíz, almidón de trigo, almidón de arroz, almidón de patata, gelatina, goma de tragacanto, metilcelulosa, celulosa microcristalina, hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio; u otros tales como: polivinilpirrolidona (PVP o povidona) o fosfato de calcio. En realizaciones específicas, se añaden opcionalmente agentes desintegrantes. Los agentes desintegrantes incluyen, a modo de ejemplo solamente, croscarmelosa de sodio reticulada, polivinilpirrolidona, agar, o ácido algínico o una sal del mismo, tal como alginato de sodio.

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

En determinadas realizaciones, las cantidades terapéuticamente eficaces de al menos uno de los compuestos descritos en el presente documento se formulan en otras formas farmacéuticas orales. Las formas farmacéuticas orales incluyen cápsulas de ajuste a presión hechas de gelatina, así como cápsulas blandas y selladas hechas de gelatina y un plastificante, tal como glicerol o sorbitol. En realizaciones específicas, las cápsulas de ajuste a presión contienen los principios activos mezclados con una o más cargas. Los cargas incluyen, a modo de ejemplo solamente, lactosa, aglutinantes tales como almidones, y/o lubricantes tales como talco o estearato de magnesio y, opcionalmente, estabilizadores. En otras realizaciones, las cápsulas blandas contienen uno o más compuestos activos que se disuelven o suspenden en un líquido adecuado. Los líquidos adecuados incluyen, a modo de ejemplo solamente, uno o más aceites grasos, parafina líquida o polietilenglicol líquido. Además, se añaden opcionalmente estabilizadores.

En otras realizaciones, las cantidades terapéuticamente eficaces de al menos uno de los compuestos descritos en el presente documento se formulan para administración bucal o sublingual. Las formulaciones adecuadas para administración bucal o sublingual incluyen, a modo de ejemplo solamente, comprimidos, pastillas o geles. En todavía otras realizaciones, los compuestos descritos en el presente documento están formulados para inyección parenteral, incluyendo formulaciones adecuadas para inyección en bolo o infusión continua. En realizaciones específicas, se presentan formulaciones para inyección en forma farmacéutica unitaria (por ejemplo, en ampollas) o en envases multidosis. Opcionalmente, se añaden conservantes a las formulaciones de inyección. En todavía otras realizaciones, las composiciones farmacéuticas de un compuesto (es decir, un compuesto de ciclohexenona descrito en el presente documento) se formulan en una forma adecuada para inyección parenteral tal como suspensiones, disoluciones o emulsiones estériles en vehículos oleosos o acuosos. Las formulaciones de inyección parenteral contienen opcionalmente agentes de formulación tales como agentes de suspensión, estabilización y/o dispersión. En realizaciones específicas, las formulaciones farmacéuticas para administración parenteral incluyen disoluciones acuosas de los compuestos activos en forma soluble en agua. En realizaciones adicionales, las suspensiones de los compuestos activos se preparan como suspensiones de inyección oleosas apropiadas. Los disolventes o vehículos lipófilos adecuados para su uso en las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento incluyen, a modo de ejemplo solamente, aceites grasos tales como aceite de sésamo, o ésteres de ácidos grasos sintéticos, tales como triglicéridos u oleato de etilo, o liposomas. En determinadas realizaciones específicas, las suspensiones de inyección acuosas contienen sustancias que aumentan la viscosidad de la suspensión, tales como carboximetilcelulosa de sodio, sorbitol o dextrano. Opcionalmente, la suspensión contiene estabilizadores o agentes adecuados que aumentan la solubilidad de los compuestos para permitir la preparación de disoluciones altamente concentradas. Alternativamente, en otras realizaciones, el principio activo está en forma de polvo para su constitución con un vehículo adecuado, por ejemplo, agua estéril libre de pirógenos, antes de su uso.

En un aspecto, los compuestos (es decir, los compuestos de ciclohexenona descritos en el presente documento) se preparan como disoluciones para inyección parenteral tal como se describe en el presente documento o se conoce en la técnica y se administran con un inyector automático. Se conocen inyectores automáticos, tales como los descritos en las patentes estadounidenses n.ºs 4.031.893, 5.358.489; 5.540.664; 5.665.071, 5.695.472 y el documento WO/2005/087297. En general, todos los inyectores automáticos contienen un volumen de disolución que incluye un compuesto (es decir, un compuesto de ciclohexenona descrito en el presente documento) que va a inyectarse. En general, los inyectores automáticos incluyen un depósito para retener la disolución, que está en comunicación fluida con una aguja para suministrar el medicamento, así como un mecanismo para desplegar automáticamente la aguja, insertar la aguja en el paciente y suministrar la dosis al paciente. Los inyectores a modo de ejemplo proporcionan

aproximadamente 0,3 ml, 0,6 ml, 1,0 ml u otro volumen adecuado de disolución a aproximadamente una concentración de 0,5 mg a 50 mg de un compuesto (es decir, un compuesto de ciclohexenona descrito en el presente documento) por 1 ml de disolución. Cada inyector es capaz de suministrar solo una dosis del compuesto.

5 En todavía otras realizaciones, los compuestos (es decir, compuestos de ciclohexenona descritos en el presente documento) se administran por vía tópica. Los compuestos descritos en el presente documento se formulan en una variedad de composiciones administrables por vía tópica, tales como disoluciones, suspensiones, lociones, geles, pastas, barras medicinales, bálsamos, cremas o pomadas. Dichas composiciones farmacéuticas contienen opcionalmente solubilizantes, estabilizadores, agentes potenciadores de la tonicidad, tampones y conservantes.

10 En aun otras realizaciones, los compuestos (es decir, compuestos de ciclohexenona descritos en el presente documento) están formulados para administración transdérmica. En realizaciones específicas, las formulaciones transdérmicas emplean dispositivos de suministro transdérmico y parches de suministro transdérmico y pueden ser emulsiones lipófilas o disoluciones acuosas tamponadas, disueltas y/o dispersas en un polímero o un adhesivo. En diversas realizaciones, dichos parches están contruidos para el suministro continuo, pulsátil o bajo demanda de agentes farmacéuticos. En realizaciones adicionales, el suministro transdérmico de un compuesto (es decir, un compuesto de ciclohexenona descrito en el presente documento) se lleva a cabo mediante parches iontoforéticos y similares. En determinadas realizaciones, los parches transdérmicos proporcionan el suministro controlado de un compuesto (es decir, un compuesto de ciclohexenona descrito en el presente documento). En realizaciones específicas, la velocidad de absorción se ralentiza usando membranas de control de velocidad o atrapando el compuesto dentro de una matriz o gel poliméricos. En realizaciones alternativas, se usan potenciadores de absorción para aumentar la absorción. Los potenciadores o portadores de la absorción incluyen disolventes absorbibles farmacéuticamente aceptables que ayudan al paso a través de la piel. Por ejemplo, en una realización, los dispositivos transdérmicos tienen forma de un vendaje que comprende un elemento de soporte, un depósito que contiene el compuesto opcionalmente con portadores, opcionalmente una barrera de control de velocidad para suministrar el compuesto a la piel del huésped a una velocidad controlada y predeterminada a lo largo de un período prolongado de tiempo, y medios para asegurar el dispositivo a la piel.

15 Las formulaciones transdérmicas descritas en el presente documento pueden administrarse usando una variedad de dispositivos que se han descrito en la técnica. Por ejemplo, dichos dispositivos incluyen, pero no se limitan a, las patentes estadounidense n.^{os} 3.598.122, 3.598.123, 3.710.795, 3.731.683, 3.742.951, 3.814.097, 3.921.636, 3.972.995, 3.993.072, 3.993.073, 3.996.934, 4.031.894, 4.060.084, 4.069.307, 4.077.407, 4.201.211, 4.230.105, 4.292.299, 4.292.303, 5.336.168, 5.665.378, 5.837.280, 5.869.090, 6.923.983, 6.929.801 y 6.946.144.

20 Las formas farmacéuticas transdérmicas descritas en el presente documento pueden incorporar determinados excipientes farmacéuticamente aceptables que son convencionales en la técnica. En una realización, las formulaciones transdérmicas descritas en el presente documento incluyen al menos tres componentes: (1) una formulación de un compuesto (es decir, un compuesto de ciclohexenona descrito en el presente documento); (2) un potenciador de penetración; y (3) un adyuvante acuoso. Además, las formulaciones transdérmicas pueden incluir componentes adicionales tales como, pero sin limitarse a, agentes gelificantes, cremas y bases para pomadas, y similares. En algunas realizaciones, las formulaciones transdérmicas incluyen además un material de soporte tejido o no tejido para potenciar la absorción y evitar la retirada de la formulación transdérmica de la piel. En otras realizaciones, las formulaciones transdérmicas descritas en el presente documento mantienen un estado saturado o sobresaturado para promover la difusión en la piel.

25 En otras realizaciones, los compuestos (es decir, compuestos de ciclohexenona descritos en el presente documento) se formulan para administración por inhalación. Las diversas formas adecuadas para la administración por inhalación incluyen, pero no se limitan a, aerosoles, brumas o polvos. Las composiciones farmacéuticas de un compuesto (es decir, un compuesto de ciclohexenona descrito en el presente documento) se administran convenientemente en forma de presentación de pulverización en aerosol de envases presurizados o un nebulizador, con el uso de un propulsor adecuado (por ejemplo, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono u otro gas adecuado). En realizaciones específicas, la unidad de dosificación de un aerosol presurizado se determina proporcionando una válvula para suministrar una cantidad medida. En determinadas realizaciones, se formulan cápsulas y cartuchos de, tales como, a modo de ejemplo solamente, gelatinas para su uso en un inhalador o insuflador que contiene una mezcla en polvo del compuesto y una base en polvo adecuada tal como lactosa o almidón.

30 Las formulaciones intranasales son conocidas en la técnica y se describen, por ejemplo, en las patentes estadounidenses n.^{os} 4.476.116, 5.116.817 y 6.391.452. Las formulaciones, que incluyen un compuesto (es decir, un compuesto de ciclohexenona descrito en el presente documento), que se preparan según estas y otras técnicas bien conocidas en la técnica, se preparan como soluciones en solución salina, empleando alcohol bencílico u otros conservantes adecuados, fluorocarbonos y/u otros agentes solubilizantes o dispersantes conocidos en la técnica. Véase, por ejemplo, Ansel, H. C. *et al.*, *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, sexta ed. (1995). Preferiblemente, estas composiciones y formulaciones se preparan con componentes farmacéuticamente aceptables no tóxicos adecuados. Estos componentes se encuentran en fuentes tales como REMINGTON: THE SCIENCE AND PRACTICE OF PHARMACY, 21^a edición, 2005, una referencia estándar en el campo. La elección de portadores adecuados depende en gran medida de la naturaleza exacta de la forma farmacéutica nasal deseada, por ejemplo, disoluciones, suspensiones, pomadas, o geles. Las formas farmacéuticas nasales generalmente contienen grandes

cantidades de agua además del principio activo. También pueden estar presentes cantidades menores de otros componentes tales como ajustadores de pH, emulsionantes o agentes dispersantes, conservantes, tensioactivos, agentes gelificantes o agentes tamponantes y otros estabilizantes y solubilizantes. Preferiblemente, la forma farmacéutica nasal debe ser isotónica con las secreciones nasales.

5 Para la administración por inhalación, los compuestos descritos en el presente documento pueden estar en forma de aerosol, bruma o polvo. Las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento se suministran convenientemente en forma de presentación de pulverización en aerosol de envases presurizados o un nebulizador, con el uso de un propulsor adecuado, por ejemplo, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono u otro gas adecuado. En el caso de un aerosol presurizado, la unidad de dosificación puede determinarse proporcionando una válvula para suministrar una cantidad medida. Pueden formularse cápsulas y cartuchos de, tal como, a modo de ejemplo solamente, gelatina para su uso en un inhalador o insuflador que contiene una mezcla en polvo del compuesto descrito en el presente documento y una base en polvo adecuada tal como lactosa o almidón.

15 En todavía otras realizaciones, los compuestos (es decir, compuestos de ciclohexenona descritos en el presente documento) se formulan en composiciones rectales tales como enemas, geles rectales, espumas rectales, aerosoles rectales, supositorios, supositorios de gelatina, o enemas de retención, que contienen bases de supositorios convencionales tales como manteca de cacao, u otros glicéridos, así como polímeros sintéticos tales como polivinilpirrolidona, PEG, y similares. En formas de supositorio de las composiciones, en primer lugar se derrite una cera de bajo punto de fusión tal como, pero sin limitarse a, una mezcla de glicéridos de ácidos grasos, opcionalmente en combinación con manteca de cacao.

20 En determinadas realizaciones, se formulan composiciones farmacéuticas de cualquier manera convencional usando uno o más portadores fisiológicamente aceptables que comprenden excipientes y auxiliares que facilitan el procesamiento de los compuestos activos en preparaciones que pueden usarse farmacéuticamente. La formulación adecuada depende de la vía de administración elegida. Cualquier técnica, portador y excipiente farmacéuticamente aceptable se usa opcionalmente tal como sea adecuado y como se entienda en la técnica. Las composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto (es decir, un compuesto de ciclohexenona descrito en el presente documento) pueden fabricarse de manera convencional, tal como, a modo de ejemplo solamente, por medio de procesos de mezclado, disolución, granulación, fabricación de grageas, levigación, emulsión, encapsulación, atrapamiento o compresión.

25 Las composiciones farmacéuticas incluyen al menos un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable y un compuesto de ciclohexenona descrito en el presente documento como principio activo. El principio activo está en forma de ácido libre o base libre, o en forma de sal farmacéuticamente aceptable. Además, los métodos y composiciones farmacéuticas descritos en el presente documento incluyen el uso de formas cristalinas (también conocidas como polimorfos), así como metabolitos activos de estos compuestos que tienen el mismo tipo de actividad. 30 Todos los tautómeros de los compuestos descritos en el presente documento están incluidos dentro del alcance de los compuestos presentados en el presente documento. Además, los compuestos descritos en el presente documento abarcan formas no solvatadas así como solvatadas con disolventes farmacéuticamente aceptables tales como agua, etanol, y similares. Las formas solvatadas de los compuestos presentados en el presente documento también se consideran que están descritas en el presente documento. Además, las composiciones farmacéuticas incluyen 35 opcionalmente otros agentes, portadores, adyuvantes medicinales o farmacéuticos, tales como agentes conservantes, estabilizantes, humectantes o emulsionantes, promotores de disolución, sales para regular la presión osmótica, tampones y/u otras sustancias terapéuticamente valiosas.

40 Los métodos para la preparación de composiciones que comprenden los compuestos descritos en el presente documento incluyen la formulación de los compuestos con uno o más excipientes o portadores inertes, farmacéuticamente aceptables para formar un sólido, semisólido o líquido. Las composiciones sólidas incluyen, pero no se limitan a, polvos, comprimidos, gránulos dispersables, cápsulas, obleas y supositorios. Las composiciones líquidas incluyen disoluciones en las que se disuelve un compuesto, emulsiones que comprenden un compuesto, o una solución que contiene liposomas, micelas o nanopartículas que comprenden un compuesto tal como se describe en el presente documento. Las composiciones semisólidas incluyen, pero no se limitan a, geles, suspensiones y 45 cremas. La forma de las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento incluye disoluciones o suspensiones líquidas, formas sólidas adecuadas para su disolución o suspensión en un líquido antes de su uso, o como emulsiones. Estas composiciones también contienen opcionalmente cantidades menores de sustancias auxiliares no tóxicas, tales como agentes humectantes o emulsionantes, agentes tamponadores del pH, y así sucesivamente.

50 En algunas realizaciones, la composición farmacéutica que comprende al menos el compuesto (es decir, compuestos de ciclohexenona descritos en el presente documento) ilustrativamente toma la forma de un líquido donde los agentes están presentes en disolución, en suspensión o ambas. Normalmente, cuando la composición se administra como disolución o suspensión, una primera porción del agente está presente en disolución y una segunda porción del agente está presente en forma de partículas, en suspensión en una matriz líquida. En algunas realizaciones, una composición 55 líquida incluye una formulación en gel. En otras realizaciones, la composición líquida es acuosa.

60

En determinadas realizaciones, las suspensiones acuosas farmacéuticas incluyen uno o más polímeros como agentes de suspensión. Los polímeros incluyen polímeros solubles en agua, tales como polímeros celulósicos, por ejemplo, hidroxipropilmetilcelulosa, y polímeros insolubles en agua, tales como polímeros que contienen carboxilo reticulados. Determinadas composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento incluyen un polímero mucoadhesivo, seleccionado de, por ejemplo, carboximetilcelulosa, carbómero (polímero de ácido acrílico), poli(metacrilato de metilo), poliacrilamida, policarbófilo, copolímero de ácido acrílico/acrilato de butilo, alginato de sodio y dextrano.

Las composiciones farmacéuticas también incluyen opcionalmente agentes solubilizantes para ayudar en la solubilidad de un compuesto (es decir, compuestos de ciclohexenona descritos en el presente documento). El término "agente solubilizante" generalmente incluye agentes que dan como resultado la formación de una solución micelar o una disolución verdadera del agente. Determinados tensioactivos no iónicos aceptables, por ejemplo polisorbato 80, son útiles como agentes solubilizantes, al igual que glicoles, poliglicoles oftálmicamente aceptables, por ejemplo, polietilenglicol 400 y éteres de glicol.

Además, las composiciones farmacéuticas incluyen opcionalmente uno o más agentes de ajuste de pH o agentes tamponantes, que incluyen ácidos tales como ácidos acético, bórico, cítrico, láctico, fosfórico y clorhídrico; bases tales como hidróxido de sodio, fosfato de sodio, borato de sodio, citrato de sodio, acetato de sodio, lactato de sodio y tris-hidroximetilaminometano; y tampones tales como citrato/dextrosa, bicarbonato de sodio y cloruro de amonio. Dichos ácidos, bases y tampones se incluyen en una cantidad requerida para mantener el pH de la composición en un intervalo aceptable.

Además, las composiciones farmacéuticas incluyen opcionalmente una o más sales en una cantidad requerida para llevar la osmolalidad de la composición a un intervalo aceptable. Dichas sales incluyen las que tienen cationes de sodio, potasio o amonio y aniones cloruro, citrato, ascorbato, borato, fosfato, bicarbonato, sulfato, tiosulfato o bisulfito; las sales adecuadas incluyen cloruro de sodio, cloruro de potasio, tiosulfato de sodio, bisulfito de sodio y sulfato de amonio.

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

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

Todavía otras composiciones farmacéuticas pueden incluir uno o más antioxidantes para potenciar la estabilidad química cuando sea necesario. Los antioxidantes adecuados incluyen, a modo de ejemplo solamente, ácido ascórbico y metabisulfito de sodio.

En determinadas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de suspensión acuosa se envasan en envases de dosis única que no pueden volver a cerrarse. Alternativamente, se usan envases de dosis múltiples que pueden volver a cerrarse, en cuyo caso es típico incluir un conservante en la composición.

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

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

Tratamientos de combinación

En general, en la terapia de combinación, no se administran otros agentes en la misma composición farmacéutica, y en algunas realizaciones, debido a diferentes características físicas y químicas, se administran por diferentes vías. En algunas realizaciones, la administración inicial se realiza según protocolos establecidos, y luego, basándose en los efectos observados, el médico experto modifica la dosificación, los modos de administración y los tiempos de administración.

En algunas realizaciones, las dosificaciones terapéuticamente eficaces varían cuando los fármacos se usan en combinaciones de tratamiento. El tratamiento de combinación incluye además tratamientos periódicos que comienzan y se detienen en diversos momentos para ayudar con la gestión clínica del paciente. Para las terapias de combinación descritas en el presente documento, las dosificaciones de los compuestos administrados conjuntamente varían dependiendo del tipo de fármaco conjunto empleado, del fármaco específico empleado, de la enfermedad, trastorno o afección que va a tratarse, y así sucesivamente.

Se entiende que en algunas realizaciones, la pauta posológica para tratar, prevenir o mitigar la(s) afección/afecciones para las cuales se busca alivio, se modifica según una variedad de factores. Estos factores incluyen el trastorno que padece el sujeto, así como la edad, el peso, el sexo, la dieta y el estado de salud del sujeto. Por tanto, en otras realizaciones, la pauta posológica realmente empleada varía ampliamente y, por lo tanto, se desvía de las pautas posológicas establecidas en el presente documento.

En algunas realizaciones, los ejemplos de enfermedades neurodegenerativas tales como los agentes terapéuticos para EA incluyen, pero no se limitan a, los siguientes: donepezilo (Aricept®), galantamina (RAZADYNE™, Reminyl®), rivastigmina (Exelon®), tacrina (Cognex®), memantina (Namenda®), y similares.

Las combinaciones de los compuestos de ciclohexenona y otros agentes terapéuticos para enfermedades neurodegenerativas descritos en el presente documento abarcan terapias y pautas de tratamiento adicionales con otros agentes en algunas realizaciones. Dichas terapias y pautas de tratamiento adicionales pueden incluir otra terapia para enfermedades neurodegenerativas. Alternativamente, las terapias y las pautas de tratamiento adicionales incluyen otros agentes utilizados para tratar afecciones complementarias asociadas con la enfermedad neurodegenerativa o un efecto secundario de dicho agente en la terapia de combinación. En realizaciones adicionales, se administran adyuvantes o potenciadores con una terapia de combinación descrita en el presente documento.

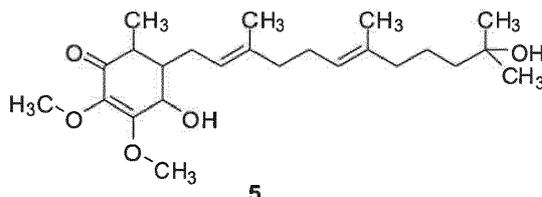
Ejemplos

Ejemplo 1. Preparación de compuestos de ciclohexenona a modo de ejemplo

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

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

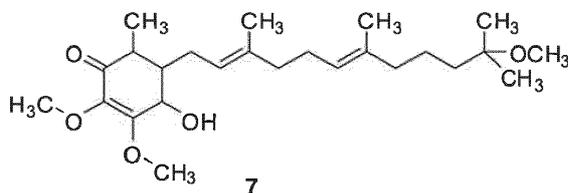
Las fracciones recogidas entre los 21,2 y 21,4 minutos se recogieron y se concentraron para dar el compuesto 5, un producto de líquido de color amarillo pálido. Se analizó que el compuesto 5 era 4-hidroxi-5-(11-hidroxi-3,7,11-trimetildodeca-2,6-dienil)-2,3-dimetoxi-6-metilciclohex-2-enona con un peso molecular de 408 (Fórmula molecular: C₂₄H₄₀O₅). ¹H-RMN (CDCl₃) δ (ppm) = 1,21, 1,36, 1,67, 1,71, 1,75, 1,94, 2,03, 2,07, 2,22, 2,25, 3,68, 4,05, 5,71 y 5,56. ¹³C-RMN (CDCl₃) δ (ppm): 12,31, 16,1, 16,12, 17,67, 25,67, 26,44, 26,74, 27,00, 30,10, 40,27, 43,34, 59,22, 60,59, 71,8, 120,97, 123,84, 124,30, 131,32, 134,61, 135,92, 138,05, 160,45, y 197,11.



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

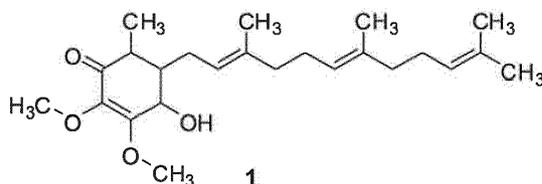
Las fracciones recogidas entre los 23,7 y 24,0 min se recogieron y se concentraron para dar el compuesto 7, un producto de líquido de color amarillo pálido. Se analizó que el compuesto 7 era 4-hidroxi-2,3-dimetoxi-5-(11-metoxi-3,7,11-trimetildodeca-2,6-dienil)-6-metilciclohex-2-enona con un peso molecular de 422 (C₂₅H₄₂O₅). ¹H-RMN (CDCl₃)

δ (ppm) = 1,21, 1,36, 1,71, 1,75, 1,94, 2,03, 2,07, 2,22, 2,25, 3,24, 3,68, 4,05, 5,12, 5,50 y 5,61. ^{13}C -RMN (CDCl_3) δ (ppm): 12,31, 16,1, 16,12, 17,67, 24,44, 26,44, 26,74, 27,00, 37,81, 39,81, 40,27, 43,34, 49,00, 59,22, 60,59, 120,97, 123,84, 124,30, 135,92, 138,05, 160,45 y 197,12.



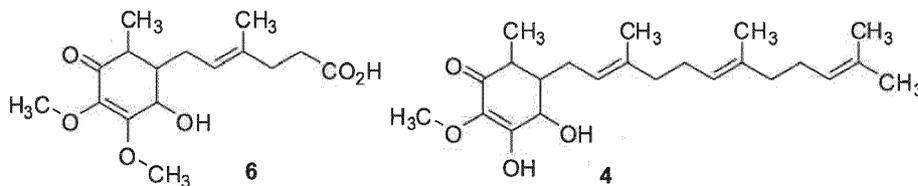
5 Compuesto 7: 4-hidroxi-2,3-dimetoxi-5-(11-metoxi-3,7,11-trimetildodeca-2,6-dienil)-6-metilciclohex-2-enona

Las fracciones recogidas entre los 25 y 30 minutos se recogieron y se concentraron para dar 4-hidroxi-2,3-dimetoxi-metil-5-(3,7,11-trimetildodeca-2,6,10-trienil)ciclohex-2-enona (compuesto 1), un producto de líquido de color marrón amarillo pálido. El análisis del compuesto 1 mostró la fórmula molecular de $\text{C}_{24}\text{H}_{38}\text{O}_4$, peso molecular de 390 con punto de fusión de 48 a 52°C. Los espectros de RMN mostraron que ^1H -RMN (CDCl_3) δ (ppm) = 1,51, 1,67, 1,71, 1,75, 1,94, 2,03, 2,07, 2,22, 2,25, 3,68, 4,05, 5,07 y 5,14; ^{13}C -RMN (CDCl_3) δ (ppm) = 12,31, 16,1, 16,12, 17,67, 25,67, 26,44, 26,74, 27,00, 39,71, 39,81, 40,27, 43,34, 59,22, 60,59, 120,97, 123,84, 124,30, 131,32, 135,35, 135,92, 138,05, 160,45, y 197,12.

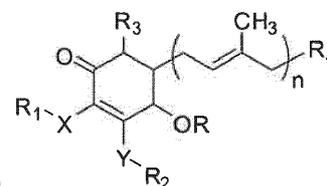


Compuesto 1: 4-hidroxi-2,3-dimetoxi-6-metil-5-(3,7,11-trimetildodeca-2,6,10-trienil)ciclohex-2-enona

15 Se obtuvo el compuesto 6, un metabolito del compuesto 1, a partir de muestras de orina de ratas alimentadas con el compuesto 1 en el estudio con animales. Se determinó que el compuesto 6 era 4-hidroxi-2,3-dimetoxi-6-metil-5-(ácido 3-metil-2-hexenoico)ciclohex-2-enona con un peso molecular de 312 ($\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{O}_6$). El compuesto 4, que se determinó como 3,4-dihidroxi-2-metoxi-6-metil-5-(3,7,11-trimetildodeca-2,6,10-trienil)ciclohex-2-enona (peso molecular de 376, $\text{C}_{23}\text{H}_{36}\text{O}_4$), se obtuvo cuando el compuesto 1 estuvo en condiciones de más de 40°C durante 6 horas.



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



25 De manera similar, otros compuestos de ciclohexenona que tienen la estructura se aíslan de *Antrodia camphorata* o se preparan sintética o semisintéticamente a partir de los productos de partida adecuados. Un experto en la técnica utilizaría fácilmente las condiciones apropiadas para tal síntesis.

Ejemplo 2. Preparación y mantenimiento de cultivos de PC12

PC12 es una línea celular derivada de un feocromocitoma de la médula suprarrenal de ratas. Las células PC12 dejan de dividirse y se diferencian de manera terminal cuando se tratan con factor de crecimiento nervioso. Esto hace que las células PC12, y similares, sean útiles como sistema modelo para la diferenciación neuronal.

30 Se cultivaron células PC12 de feocromocitoma de rata, adquiridas en Bioresource Collection and Research Center (BCRC), en medio RPMI1640 (Gibco, MD) que contenía el 10% de suero fetal de ternero, el 5% de suero de donante equino, estreptomina 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 100 unidades/ml de penicilina, L-glutamina 2 mM, y se mantuvieron en un incubador humidificado a 37°C con CO_2 al 5%. Las células se transfirieron dos veces a la semana. Los experimentos se llevaron

a cabo en placas de 96 pocillos recubiertas con poli-D-lisina (1 mg/ml) para ayudar a la adhesión celular. Las células PC12 se hicieron crecer en medio con factor de crecimiento del nervio de la glándula submaxilar de ratón (NGF 2.5S, 100 ng/ml; Invitrogen, Carlsbad, CA) durante 48 h para inducir la diferenciación en células similares a neuronas antes de todos los experimentos realizados en este estudio.

5 Ejemplo 3: Tratamientos experimentales de compuesto 1 y β -amiloide en cultivos de PC12

Para optimizar la concentración del compuesto 1 a modo de ejemplo para el modelo neural de PC12 inducido por NGF, se realizaron experimentos de valoración para determinar los valores de CI_{50} del compuesto 1 en PC12. Se incubaron células PC12 (1×10^4 células) con diversas concentraciones del compuesto 1 (0,001, 0,01, 0,1, 1, 10, 100 μ g/ml en un medio suplementado con suero al 10%; 0,3, 1, 3, 10, 30, 100 μ g/ml en medio sin suero) durante 48 h.

- 10 Se disolvió β -amiloide₁₋₄₀ (A β) (Invitrogen, Carlsbad, CA) en ácido trifluoroacético (TFA) al 0,1% (v/v) en agua a 10 mg/ml y se almacenó a -20°C como disolución madre. El A β se diluyó hasta 0,5 mg/ml con solución salina tamponada con fosfato (PBS, sin Ca²⁺) y se agregó a 25°C durante 48 h antes de su uso. Para investigar el efecto terapéutico del compuesto 1 a modo de ejemplo sobre el modelo celular de la enfermedad de Alzheimer (EA) *in vitro*, se pretrataron cultivos con A β durante 24 h y luego se expusieron al compuesto 1 recién preparado durante 24 h antes de las mediciones de viabilidad celular.
- 15 Por el contrario, para investigar el efecto profiláctico del compuesto 1 en el modelo celular de EA, se pretrataron cultivos con el compuesto 1 durante 24 h y luego exposición a A β agregado durante 24 h antes de las mediciones de viabilidad celular.

Ejemplo 4: ensayo de viabilidad celular CCK-8

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

- 25 Se midió la viabilidad de las células utilizando el Cell Counting Kit-8 (CCK-8, Enzo, Life Sciences). Una sal de tetrazolio altamente soluble en agua, WST-8, se reduce mediante deshidrogenasas en las células para proporcionar un producto de color amarillo (formazán), que es soluble en el medio de cultivo. La cantidad del colorante formazán generado por la actividad de deshidrogenasas en las células es directamente proporcional al número de células vivas. Tras los tratamientos, se añadió la disolución de CCK-8 a cada pocillo de placas y se incubó la placa durante 4 h en el incubador. La concentración del producto formazán se determinó espectrofotométricamente a una longitud de onda de absorbancia de 450 nm y la viabilidad celular se expresó como un porcentaje del control correspondiente.

- 30 Se determina que los valores de CI_{50} del compuesto 1 de la invención a modo de ejemplo son 57,98 μ g/ml (en medio suplementado con suero al 10%) y 13,39 μ g/ml (medio sin suero) respectivamente mediante ensayo de viabilidad celular (figura 1). Para valorar el potencial profiláctico del compuesto de ciclohexenona de la invención (es decir, el compuesto 1) se pretrataron las células PC12 inducidas por NGF con diferentes concentraciones de compuesto 1 (25 y 50 μ g/ml en medio suplementado con suero al 10%; 0,3 y 3 μ g/ml en medio sin suero) durante 24 h. Después del lavado, las células se expusieron a β -amiloide (A β) 10 μ M durante otras 24 h antes de determinar la viabilidad celular.
- 35 Los resultados de viabilidad celular indican que el compuesto 1 a modo de ejemplo muestra un impacto significativo en la prevención (reducción del riesgo) en células de daño neuronal inducido por A β en condiciones de cultivo con suero o sin suero (figuras 2A y 2C). Se llevó a cabo un experimento similar para valorar el efecto terapéutico del compuesto 1. En primer lugar, se pretrataron células PC12 se pretrataron con A β 10 μ M durante 24 h en medio con suero y sin suero por separado. Después del lavado, las células PC12 se expusieron entonces a diferentes concentraciones de compuesto 1 tal como se indicó durante otras 24 h antes de la determinación de la viabilidad celular. Los resultados mostraron que el tratamiento con compuesto 1 en dosis baja inhibió drásticamente el daño inducido por A β y mejoró la viabilidad celular (figura 2B y 2D).

Ejemplo 5: Estudio en animales de la enfermedad de Parkinson con el compuesto 1

- 45 Se dividen aleatoriamente treinta ratas Wistar adultas en cinco grupos, a saber, control, modelo 6-OHDA, y compuesto 1 (25, 50, y 100 mg/kg de peso corporal suspendidos en un ml de carboximetilcelulosa al 0,1%). El tratamiento se inicia tres días antes de la cirugía y continúa durante los siguientes 14 días. La cirugía se realiza al tercer día en todos los grupos para la administración de 6-OHDA en el cuerpo estriado derecho y la sustancia negra derecha, mientras que el grupo de control se inyecta el vehículo 6-OHDA. Para evaluar el efecto neuroprotector del compuesto 1 se utilizan diversas pruebas bioquímicas y de comportamiento (comportamiento rotacional inducido por apomorfina, prueba de pasos, tiempo de iniciación, prueba de equilibrio postural, y tiempo de desconexión). Para comparar las diferencias entre grupos, se usa el análisis de varianza unidireccional (ANOVA) seguido de la prueba de Dunnett. $P < 0,05$ se considera estadísticamente significativo.

Animales: Treinta ratas macho Wistar adultas, con un peso de 200 a 250 g, se mantienen bajo un ciclo de luz:oscuridad de 12:12 h con alimento y agua proporcionados a voluntad.

- 55 Diseño experimental: Los animales se asignan aleatoriamente a cinco grupos como Vehículo, 6-OHDA, compuesto 1 (25, 50, y 100 mg/kg de peso corporal) de seis ratas cada uno. Los grupos de Vehículo y 6-OHDA reciben 1 ml de disolución de carboximetilcelulosa (CMC) al 0,1% en agua mientras que los grupos de compuesto 1 se tratan con las

dosis seleccionadas, suspendidas en 1 ml de CMC al 0,1% en agua. Todos los tratamientos se proporcionan por vía oral; diariamente por la mañana a las 10 am, durante 17 días (incluye tres días de pretratamiento antes de la cirugía). Al tercer día, se realiza cirugía cerebral, después de 60 minutos de cada tratamiento, en todos los grupos para la administración de 6-OHDA, excepto el grupo tratado con vehículo, donde se administra vehículo.

- 5 Procedimiento Operativo: Se produce lesión unilateral del estriado mediante inyección estereotáxica de 7 µg de 6-OHDA en el cuerpo estriado derecho y 7 µg de 6-OHDA en la sustancia negra derecha según el atlas del procedimiento conocido.

10 Brevemente, el animal se anestesia con anestesia de pentobarbital (Sigma, 45 mg/kg, i.p.) y se coloca en instrumentos de estereotaxis. Se prepara la disolución en una solución salina de ascorbato de 0,2 mg/ml y se inyecta en el cuerpo estriado derecho con una jeringa Hamilton a una velocidad de 1 µl/min. Las coordenadas estereotáxicas son 1 mm anterior al bregma, 2 mm lateral desde la línea media, y 4,5 mm por debajo de la duramadre para el cuerpo estriado y 5,8 mm posterior a bregma, 1,6 mm lateral desde la línea media y 8 mm debajo de la duramadre para la parte SN del cerebro con la barra incisiva ubicada 3,3 mm por debajo de la línea interaural en el lado no dominante.

15 Quantificación del comportamiento rotacional: El día 14, después de la inyección estereotáxica del estriado derecho de 6-OHDA, los animales se someten a pruebas de comportamiento rotacional. Se inyectan clorhidrato de apomorfina a las ratas por vía subcutánea (Sigma, 0,05 mg/kg) y después de 15 minutos de la inyección, se registran giros contralaterales durante un período de 30 minutos. Con el fin de excluir la influencia de la apomorfina, la prueba de rotación se realiza al final de todas las demás pruebas de comportamiento.

20 Prueba de pasos: Esta prueba se usa para la medición de la acinesia. El experimentador sujeta la rata con una mano fijando las extremidades posteriores (levantando ligeramente el torso) y con la otra mano fijando la extremidad anterior que no se va a monitorizar. De esta manera, la otra pata delantera tiene que soportar el peso. Cuando se mueve a las ratas con una velocidad de 90 cm por 5 s hacia adelante y hacia atrás a lo largo de la mesa, la extremidad anterior libre debe seguir el movimiento del experimentador para mantener el equilibrio. Los pasos dados para mantener el equilibrio se registran como pasos de ajuste. Esto se hace tanto para la pata delantera contralateral como para la ipsilateral y finalmente se cuentan juntas. Se cuenta el número de pasos de ajuste para ambas direcciones.

30 Tiempo de iniciación: Las ratas se entrenan previamente durante dos días para subir una rampa de madera (1,1 m) dentro de la jaula de alojamiento. Durante la prueba, la rata se sujeta como en la prueba de pasos. Se mide el tiempo hasta que el experimentador no fija el movimiento iniciado por la rata con la extremidad anterior. Esta duración se define como el tiempo de iniciación y se usa 180 s como punto de corte. La prueba se realiza una vez al día para cada extremidad anterior en tres días consecutivos y se calcula la media de las tres sesiones de prueba.

35 Prueba postural: La rata se sostiene según se describe para la prueba de pasos y luego en un movimiento rápido se inclina hacia el lado de la pata que toca la mesa, lo que provoca una pérdida de equilibrio. El animal trata de recuperar el equilibrio con un paso de ajuste que se registra mediante un sistema de puntuación que oscila entre 0 y 3: (0) sin reacción muscular detectable, la rata cae hacia un lado; (1) reacción clara de la extremidad anterior, pero la rata no puede mover la extremidad bajo el cuerpo hacia el centro de gravedad y, por lo tanto, todavía cae hacia un lado; (2) recuperación incompleta del equilibrio, es decir, la rata mueve su extremidad bajo el cuerpo pero aún no completamente en el centro de gravedad y, por lo tanto, la extremidad anterior no está alineada verticalmente con el cuerpo; además, puede que la pata delantera no se coloque en una posición plana sobre la mesa y los dedos pueden cruzarse entre sí; (3) recuperación completa del equilibrio. La prueba se repite seis veces al día en ambos lados proporcionando una puntuación diaria máxima de 18. Los resultados finales se expresan como promedio de la puntuación diaria de tres pruebas. Seis animales repiten tres veces al día durante tres días, luego se calcula la media a partir de 54 valores para seis ratas en cada grupo.

45 Tiempo de desconexión: Una sonda de madera roma toca la región perioral debajo de las vibrisas de la rata repetidamente a intervalos de 1 s cuando la rata está ocupada comiéndose un trozo de chocolate con leche. Se registra la latencia de la respuesta de orientación, es decir, el giro de la cabeza hacia el estímulo; una respuesta inmediata se puntúa como 1 s. La estimulación se interrumpe si el animal no responde en el plazo de un período de 180 s. La prueba se realiza una vez al día en cada lado durante dos días y se calcula la media de las dos subpruebas.

Todas estas pruebas (prueba de rotación, prueba de pasos, tiempo de iniciación, prueba postural, tiempo de desconexión) se realizan por un investigador cegado, que no conoce el tratamiento que se les da a los animales.

50 Medición de dopamina y sus metabolitos: Los animales se sacrifican un día después de la prueba de rotación para excluir el efecto de la apomorfina. Las muestras de estriado se separan y pesan inmediatamente después de la disección y se almacenan a -70°C hasta el ensayo. Las muestras de estriado se sonicen en ácido perclórico 0,2 M helado que contiene ácido etilendiamintetraacético (EDTA) al 0,05%. Los homogeneizados se centrifugan inmediatamente a 10.000 rpm a 4°C durante 10 minutos. Los sobrenadantes se filtran utilizando filtros de poro de 55 0,45 µm y se utilizan para la determinación de dopamina (DA) y sus metabolitos ácido 3,4-dihidroxifenilacético (DOPAC) y ácido homovanílico (HVA) mediante cromatografía líquida de alta eficacia con detector electroquímico. La fase móvil a modo de ejemplo consiste en una mezcla de ácido cítrico monohidratado 0,1 M, acetato de sodio 0,1 M, metanol al

7%, EDTA 100 mM, y ácido octanosulfónico de sodio al 0,01%. La velocidad de flujo de la fase móvil se mantiene a 1 ml/min y el volumen de inyección es de 20 ml.

5 Análisis estadístico: Los datos se expresan como media \pm desviación estándar de la media (DEM). Las comparaciones de grupos múltiples se realizan mediante análisis de varianza unidireccional (ANOVA) seguido de la prueba de Dunnett. $P < 0,05$ se considera estadísticamente significativo.

Ejemplo 6: Estudio aleatorizado y controlado que evalúa el compuesto 1 en sujetos con enfermedad de Alzheimer de leve a moderada

En este estudio participarán sesenta pacientes con enfermedad de Alzheimer de leve a moderada. La mitad de los sujetos del estudio tomarán el compuesto 1 por vía oral, mientras que la otra mitad tomará un placebo.

10 Diseño del estudio: asignación:aleatorizado

Clasificación de punto final: estudio de seguridad/eficacia

Modelo de intervención: asignación cruzada

Enmascaramiento: doble ciego (sujeto, cuidador, investigador)

Propósito primario: tratamiento

15 Medidas de resultados primarias:

Escala de valoración de la enfermedad de Alzheimer- subescala cognitiva 75 (ADAS-Cog 75) en la semana 6 [Marco temporal: semana 6]

20 Escala de 12 elementos para valorar la gravedad del deterioro cognitivo en la EA. Los elementos incluyen recordar palabras, nombrar objetos y dedos, seguir órdenes, praxis constructiva, praxis conceptual, orientación, reconocimiento de palabras, capacidad del lenguaje hablado, comprensión del lenguaje hablado, dificultad para encontrar palabras en el habla espontánea, recordar instrucciones de prueba y concentración/distracción. Intervalo de puntuación total de desde 0-75, con 75 indicando peor cognición.

Medidas de resultados secundarias:

25 Escala de evaluación de la enfermedad de Alzheimer: subescala cognitiva 75 (ADAS-Cog 75) en la semana 3 [Marco temporal: semana 3]

30 Escala de 11 elementos diseñada para valorar la gravedad de los deterioros cognitivos en sujetos con EA. Los elementos incluyen recordar palabras, nombrar objetos y dedos, seguir órdenes, praxis constructiva, praxis conceptual, orientación, reconocimiento de palabras, capacidad de lenguaje hablado, comprensión del lenguaje hablado, dificultad para encontrar palabras en el habla espontánea y recordar instrucciones de prueba. Intervalo de puntuación total de desde 0-70, con 70 indicando peor cognición.

Escala de valoración de la enfermedad de Alzheimer: subescala cognitiva 70 (ADAS-Cog 70) en la semana 6 [Marco de tiempo: semana 6]

35 Escala de 11 elementos diseñada para valorar la gravedad de los deterioros cognitivos en sujetos con EA. Los elementos incluyen recordar palabras, nombrar objetos y dedos, seguir órdenes, praxis constructiva, praxis conceptual, orientación, reconocimiento de palabras, capacidad de lenguaje hablado, comprensión del lenguaje hablado, dificultad para encontrar palabras en el habla espontánea y recordar instrucciones de prueba. Intervalo de puntuación total de desde 0-70, con 70 indicando peor cognición.

Escala de valoración de la enfermedad de Alzheimer: subescala cognitiva 70 (ADAS-Cog 70) en la semana 6 [Marco temporal: semana 6]

40 Escala de 11 elementos diseñada para valorar la gravedad de los deterioros cognitivos en sujetos con EA. Los elementos incluyen recordar palabras, nombrar objetos y dedos, seguir órdenes, praxis constructiva, praxis conceptual, orientación, reconocimiento de palabras, capacidad de lenguaje hablado, comprensión del lenguaje hablado, dificultad para encontrar palabras en el habla espontánea y recordar instrucciones de prueba. Intervalo de puntuación total de desde 0-70, con 70 indicando peor cognición.

45 Impresión clínica global media: Puntuación de mejora (CGI-I) en la semana 6 [Marco temporal: semana 6]

CGI-I: escala clínica calificada de 7 puntos que oscila entre 1 (muchísima mejoría) y 7 (muchísimo peor). La mejora se define como una puntuación de 1 (muchísima mejoría), 2 (muy mejorado) o 3 (mínimamente mejorado) en la escala. Puntuación más alta = más afectado.

Puntuación total del inventario neuropsiquiátrico (NPI) en la semana 3 [Marco temporal: Semana 3]

5 Escala de calificación basada en entrevista del cuidador que valora 12 alteraciones del comportamiento que se producen en la demencia: delirios, alucinaciones, agitación/agresión, depresión/disforia, ansiedad, entusiasmo/euforia, apatía/indiferencia, desinhibición, irritabilidad/labilidad, comportamiento motor anómalo, apetito/alimentación, y sueño. Cada puntuación de síntomas derivada por la frecuencia de los síntomas * gravedad de los síntomas (intervalo 0-12). Puntuación total = suma de las puntuaciones de los síntomas; intervalo: 0-144 con una puntuación más alta indicando mayores alteraciones del comportamiento.

Puntuación total del inventario neuropsiquiátrico (NPI) en la semana 6 [Marco temporal: Semana 6]

10 Escala de calificación basada en entrevista del cuidador que valora 12 alteraciones del comportamiento que se producen en la demencia: delirios, alucinaciones, agitación/agresión, depresión/disforia, ansiedad, entusiasmo/euforia, apatía/indiferencia, desinhibición, irritabilidad/labilidad, comportamiento motor anómalo, apetito/alimentación, y sueño. Cada puntuación de síntomas derivada por la frecuencia de los síntomas * gravedad de los síntomas (intervalo 0-12). Puntuación total = suma de las puntuaciones de los síntomas; intervalo: 0-144 con una puntuación más alta indicando mayores alteraciones del comportamiento.

15 Bateria de pruebas informatizadas para tareas de cognición (CogState): detección en la semana 3 [Marco temporal: semana 3]

20 Valoración de la función psicomotora del dominio cognitivo a través de respuestas de sí o no en el plazo de 5 minutos a 30 ensayos; intervalo de puntuación: de 0 a 3,69. Variable de rendimiento: velocidad de rendimiento; promedio del tiempo de reacción transformado por log10 t para respuestas correctas. Los tiempos de reacción superiores a 5 segundos (log10 [5000]) se excluyeron como reflejo de respuestas anormalmente lentas.

Bateria de pruebas informatizadas para tareas de cognición (CogState): detección en la semana 6 [Marco temporal: semana 6]

25 Valoración de la función psicomotora del dominio cognitivo a través de respuestas de sí o no en el plazo de 5 minutos a 30 ensayos; intervalo de puntuación: de 0 a 3,69. Variable de rendimiento: velocidad de rendimiento; promedio del tiempo de reacción transformado por log10 t para respuestas correctas. Los tiempos de reacción superiores a 5 segundos (log10 [5000]) se excluyeron como reflejo de respuestas anormalmente lentas.

En el caso en el que el estado del paciente mejora, a discreción del médico, la administración de los compuestos puede proporcionarse de forma continua o suspenderse temporalmente durante un determinado período de tiempo mediante el siguiente diseño.

Brazos	Intervenciones asignadas
Experimental: Compuesto 1	Fármaco: Compuesto 1 200 mg una vez al día durante 1 semana seguido de 100 mg dos veces al día durante 1 semana seguido de 50 mg dos veces al día durante 4 semanas
Comparación con Placebo: Placebo	Fármaco: Placebo Placebo una vez al día durante 1 semana seguido de placebo dos veces al día durante 5 semanas.

30 Elegibilidad

Edades elegibles para el estudio: De 55 Años a 85 años

Géneros elegibles para el estudio: Ambos

Criterios

Criterios de inclusión: hombres o mujeres, de 55-85 años

35 Diagnóstico de enfermedad de Alzheimer probable, consistente con los criterios de ambos: 1) National Institute of Neurological and Communicable Disease and Stroke and Alzheimer's Disease and Related Disorders Association (NINCDS-ADRDA) y 2) Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM IV).

Mini puntuación de examen de estado mental de 14-26 inclusive

Puntuación de isquemia de Hachinski modificada por Rosen de $< o = 4$

Criterios de exclusión:

Diagnóstico o antecedentes de otras demencias o trastornos neurodegenerativos

- 5 Diagnóstico o antecedentes de enfermedad cerebrovascular o cardiovascular clínicamente significativa

Sujetos con enfermedad pulmonar o evidencia de síntomas pulmonares clínicamente significativos

Ejemplo 7: Formulación oral

- 10 Para preparar una composición farmacéutica para administración oral, se mezclaron 100 mg de un compuesto 1 a modo de ejemplo con 100 mg de aceite de maíz. La mezcla se incorporó en una unidad de dosificación oral en una cápsula, que es adecuada para administración oral.

En algunos casos, se mezclan 100 mg de un compuesto descrito en el presente documento con 750 mg de almidón. La mezcla se incorpora en una unidad de dosificación oral para, tal como una cápsula de gelatina dura, que es adecuada para administración oral.

Ejemplo 8: Formulación sublingual (pastilla dura)

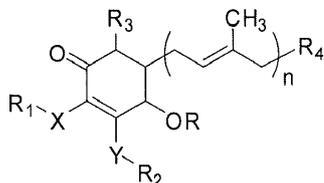
- 15 Para preparar una composición farmacéutica para administración bucal, como una pastilla dura, mezclar 100 mg de un compuesto descrito en el presente documento, con 420 mg de azúcar en polvo mezclado, con 1,6 ml de jarabe de maíz ligero, 2,4 ml de agua destilada y 0,42 ml de extracto de menta . La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

Ejemplo 9: Composición para inhalación

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

REIVINDICACIONES

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



, y al menos un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable,

- 5 en donde cada uno de X e Y es independientemente oxígeno, NR₅ o azufre;

R es un hidrógeno o C(=O)alquilo C₁-C₈;

cada uno de R₁, R₂ y R₃ es independientemente un hidrógeno, metilo o (CH₂)_m-CH₃;

R₄ es NR₅R₆, OR₅, OC(=O)R₇, C(=O)OR₅, C(=O)R₅, C(=O)NR₅R₆, halógeno, lactona de 5 o 6 miembros, alquilo C₁-C₈, alquenilo C₂-C₈, alquinilo C₂-C₈, arilo, glucosilo,

- 10 en donde la lactona de 5 o 6 miembros, alquilo C₁-C₈, alquenilo C₂-C₈, alquinilo C₂-C₈, arilo y glucosilo están opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes seleccionados de NR₅R₆, OR₅, OC(=O)R₇, C(=O)OR₅, C(=O)R₅, C(=O)NR₅R₆, alquilo C₁-C₈, alquenilo C₂-C₈, alquinilo C₂-C₈, cicloalquilo C₃-C₈ y haloalquilo C₁-C₈;

cada uno de R₅ y R₆ es independientemente un hidrógeno o alquilo C₁-C₈;

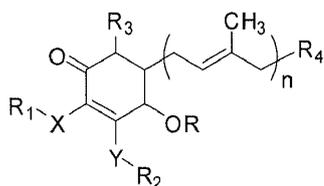
R₇ es un alquilo C₁-C₈, OR₅ o NR₅R₆;

- 15 m = 1-12; y

n = 1-12; o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo;

para su uso en el tratamiento o la reducción del riesgo de enfermedad neurodegenerativa en un sujeto.

2. Una composición farmacéutica que consiste en una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de ciclohexenona que tiene la estructura:



- 20 , y al menos un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable,

en donde cada uno de X e Y es independientemente oxígeno, NR₅ o azufre;

R es un hidrógeno o C(=O)alquilo C₁-C₈;

cada uno de R₁, R₂ y R₃ es independientemente un hidrógeno, metilo o (CH₂)_m-CH₃;

- 25 R₄ es NR₅R₆, OR₅, OC(=O)R₇, C(=O)OR₅, C(=O)R₅, C(=O)NR₅R₆, halógeno, lactona de 5 o 6 miembros, alquilo C₁-C₈, alquenilo C₂-C₈, alquinilo C₂-C₈, arilo, glucosilo,

en donde la lactona de 5 o 6 miembros, alquilo C₁-C₈, alquenilo C₂-C₈, alquinilo C₂-C₈, arilo y glucosilo están opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes seleccionados de NR₅R₆, OR₅, OC(=O)R₇, C(=O)OR₅, C(=O)R₅, C(=O)NR₅R₆, alquilo C₁-C₈, alquenilo C₂-C₈, alquinilo C₂-C₈, cicloalquilo C₃-C₈ y haloalquilo C₁-C₈;

cada uno de R₅ y R₆ es independientemente un hidrógeno o alquilo C₁-C₈;

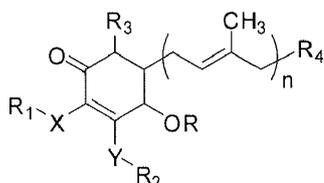
- 30 R₇ es un alquilo C₁-C₈, OR₅ o NR₅R₆;

m = 1-12; y

n = 1-12; o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo;

para su uso en la inhibición del daño neuronal inducido por β-amiloide en el tratamiento o la reducción del riesgo de enfermedad neurodegenerativa en un sujeto.

3. La composición para su uso según la reivindicación 1, en donde dicha enfermedad neurodegenerativa se selecciona del grupo que consiste en enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, esclerosis múltiple y esclerosis lateral amiotrófica.
- 5 4. La composición para su uso según la reivindicación 3, en donde dicha enfermedad neurodegenerativa es la enfermedad de Alzheimer o la enfermedad de Parkinson.
5. Una composición farmacéutica, que consiste en una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de ciclohexenona que tiene la estructura:



, y al menos un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable,

en donde cada uno de X e Y es independientemente oxígeno, NR₅ o azufre;

- 10 R es un hidrógeno o C(=O)alquilo C₁-C₈;

cada uno de R₁, R₂ y R₃ es independientemente un hidrógeno, metilo o (CH₂)_m-CH₃;

- R₄ es NR₅R₆, OR₅, OC(=O)R₇, C(=O)OR₅, C(=O)R₅, C(=O)NR₅R₆, halógeno, lactona de 5 o 6 miembros, alquilo C₁-C₈, alqueno C₂-C₈, alquino C₂-C₈, arilo, glucosilo, en donde la lactona de 5 o 6 miembros, alquilo C₁-C₈, alqueno C₂-C₈, alquino C₂-C₈, arilo y glucosilo están opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes seleccionados de NR₅R₆, OR₅, OC(=O)R₇, C(=O)OR₅, C(=O)R₅, C(=O)NR₅R₆, alquilo C₁-C₈, alqueno C₂-C₈, alquino C₂-C₈, cicloalquilo C₃-C₈ y haloalquilo C₁-C₈;
- 15 cada uno de R₅ y R₆ es independientemente un hidrógeno o alquilo C₁-C₈;

R₇ es un alquilo C₁-C₈, OR₅ o NR₅R₆;

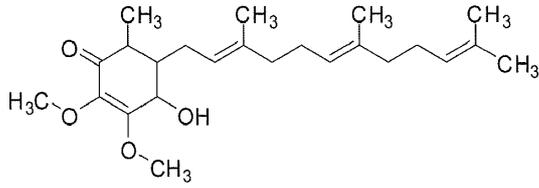
m = 1-12; y

- 20 n = 1-12; o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo;

para su uso en el tratamiento de una enfermedad inducida por β-amiloide en un sujeto.

6. La composición para su uso según la reivindicación 5, en donde la enfermedad inducida por β-amiloide es la enfermedad de Alzheimer o el síndrome de Down.
- 25 7. La composición para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde dicha composición se administra por vía oral, parenteral o intravenosa.
8. La composición para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en donde dicho compuesto se aísla de *Antrodia camphorata*, o se prepara sintética o semisintéticamente.
9. La composición para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en donde R es un hidrógeno, C(=O)C₃H₈, C(=O)C₂H₅ o C(=O)CH₃.
- 30 10. La composición para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-9, en donde cada una de R₁, R₂ y R₃ es independientemente un hidrógeno, metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, hexilo, heptilo u octilo.
11. La composición para su uso según la reivindicación 10, en donde cada uno de R₁, R₂ y R₃ es independientemente un hidrógeno o metilo.
- 35 12. La composición para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en donde R₄ es C₂H₅C(CH₃)₂OH, C₂H₅C(CH₃)₂OCH₃, CH₂COOH, C₂H₅COOH, CH₂OH, C₂H₅OH, CH₂Ph, C₂H₅Ph, CH₂CH=C(CH₃)(CHO), CH₂CH=C(CH₃)(C(=O)CH₃), lactona de 5 o 6 miembros, alquilo C₁-C₈, arilo o glucosilo, en donde la lactona de 5 o 6 miembros, alquilo C₁-C₈, arilo y glucosilo están opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes seleccionados de NR₅R₆, OR₅, OC(=O)R₇, C(=O)OR₅, C(=O)R₅, C(=O)NR₅R₆, alquilo C₁-C₈, alqueno C₂-C₈, alquino C₂-C₈, cicloalquilo C₃-C₈ y haloalquilo C₁-C₈.
- 40 13. La composición para su uso según la reivindicación 12, en donde R₄ es alquilo C₁-C₈ opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de NR₅R₆, OR₅, OC(=O)R₇, C(=O)OR₅, C(=O)R₅, C(=O)NR₅R₆, alquilo C₁-C₈, alqueno C₂-C₈, alquino C₂-C₈, cicloalquilo C₃-C₈ y haloalquilo C₁-C₈, preferiblemente en donde R₄ es CH₂CH=C(CH₃)₂.

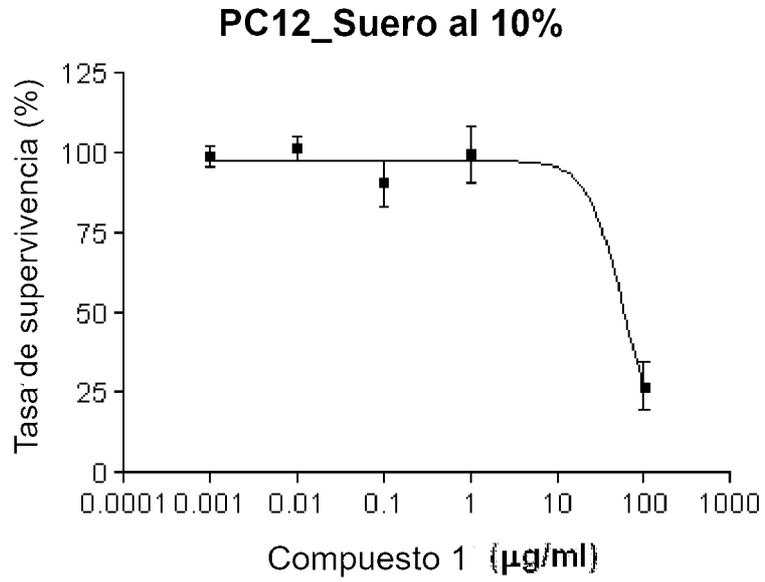
14. La composición para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-14, en donde dicho compuesto es



15. Un compuesto de ciclohexenona según se define en cualquiera de las reivindicaciones 1, 2, 5, 8 y 9-14 para su uso en un método según se define en cualquiera de las reivindicaciones 1-7.

FIG. 1A-B

A



B

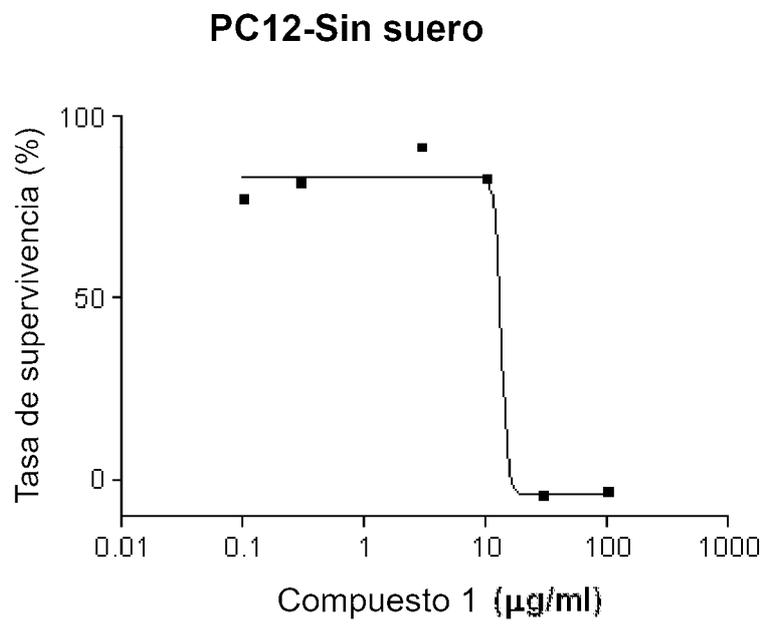


FIG. 2

