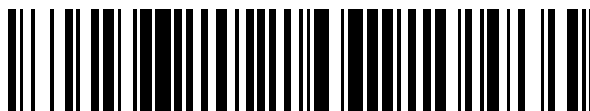


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 600 928**

51 Int. Cl.:

A61K 31/325 (2006.01)
A61K 47/48 (2006.01)
C07C 35/18 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
A61K 31/415 (2006.01)
C07D 231/12 (2006.01)
C07D 487/04 (2006.01)
C07D 207/26 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **26.08.2011 PCT/US2011/049392**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **01.03.2012 WO12027693**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.08.2011 E 11820740 (6)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.09.2016 EP 2609064**

54 Título: **Composiciones farmacéuticas que comprenden derivados de alcohol perilífico**

30 Prioridad:

04.04.2011 US 201161471402 P
27.08.2010 US 201161377747 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
13.02.2017

73 Titular/es:

NEONC TECHNOLOGIES INC. (100.0%)
10524 S. La Cienega Blvd.
Inglewood, CA 90304, US

72 Inventor/es:

CHEN, THOMAS;
LEVIN, DANIEL y
PUPALLI, SATISH

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 600 928 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

Composiciones farmacéuticas que comprenden derivados de alcohol perilífico

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a derivados de POH (alcohol perilífico). La presente invención se refiere además al uso de carbamatos de POH para tratar el cáncer.

Antecedentes de la invención

10 Los gliomas malignos, la forma más frecuente de cáncer del sistema nervioso central (SNC), se consideran hoy en día esencialmente incurables. Entre los diferentes gliomas malignos, los astrocitomas anaplásicos (grado III) y el glioblastoma multiforme (GBM; grado IV) tienen un pronóstico especialmente malo debido a su crecimiento agresivo y su resistencia a los tratamientos disponibles en la actualidad. El tratamiento de referencia actual para los gliomas malignos consiste en intervención quirúrgica, radiación ionizante y quimioterapia. A pesar de los avances recientes de la medicina, en los últimos 50 años no se ha observado ninguna mejoría significativa del pronóstico de los gliomas malignos. Wen et al. «Malignant gliomas in adults». *New England J. Med.* 359: 492-507, 2008. Stupp et al. «Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma». *New England J. Med.* 352: 987-996, 2005.

15 La mala respuesta de los tumores, entre ellos los gliomas malignos, a diferentes tipos de quimioterápicos a menudo se debe a la resistencia intrínseca a los fármacos. Adicionalmente, la resistencia adquirida de los tumores que responden bien en el inicio y los efectos secundarios indeseados son otros problemas que frustran con frecuencia el tratamiento a largo plazo con quimioterápicos. Así pues, se han preparado diferentes análogos de quimioterápicos en un intento de superar estos problemas. Los análogos incluyen nuevos agentes terapéuticos que son moléculas híbridas de al menos dos agentes terapéuticos ya existentes. Por ejemplo, el cisplatino se ha conjugado con complejos de Pt-(II) con cofármacos citotóxicos, o se ha conjugado con componentes lanzadera bioactivos, tales como porfirinas, ácidos biliares, hormonas o moduladores que aceleran el transporte transmembranario o la acumulación del fármaco en el interior de la célula. Los complejos de (6-aminometilnicotinato)dichloruroplatino(II) esterificados con alcoholes terpénicos se analizaron en un panel de líneas de células tumorales de humano. Los grupos terpenilo de estos complejos realizan una función de lanzadera transmembranaria e incrementan la velocidad de la captación, y la cantidad capturada, de estos conjugados en diferentes líneas de células tumorales. Schobert et al. «Monoterpenes as Drug Shuttles: Cytotoxic (6-aminomethylnicotinate) dichloridoplatinum(II) Complexes with Potential to Overcome Cisplatin Resistance». *J. Med. Chem.* 2007, 50, 1288-1293.

20 El alcohol perilífico (POH), un monoterpeno que se produce en la naturaleza, se ha sugerido que es un agente eficaz contra una serie de cánceres, que incluyen cáncer del SNC, cáncer de mama, cáncer de páncreas, cáncer de pulmón, melanomas y cáncer de colon. Gould, M. «Cancer chemoprevention and therapy by monoterpenes». *Environ Health Perspect.* Junio de 1997; 105 (supl. 4): 977-979. Se prepararon moléculas híbridas que contenían tanto alcohol perilífico como retinoides para incrementar la actividad inductora de la apoptosis. Das et al. «Design and synthesis of potential new apoptosis agents: hybrid compounds containing perillyl alcohol and new constrained retinoids». *Tetrahedron Letters* 2010, 51, 1462-1466.

25 Todavía existe la necesidad de preparar derivados de alcohol perilífico, que incluyen el alcohol perilífico conjugado a otros agentes terapéuticos, y de utilizar este material para el tratamiento de los cánceres, tales como los gliomas malignos, así como otros trastornos cerebrales, tales como la enfermedad de Parkinson y la enfermedad de Alzheimer. Los derivados del alcohol perilífico se pueden administrar solos (monoterapia) o en combinación (politerapia) con otros métodos de tratamiento, que incluyen radiación, quimioterapia estándar e intervención quirúrgica. La administración también puede realizarse por diferentes vías, entre ellas las vías intranasal, oral, oral-traqueal para la administración pulmonar, y transdérmica.

Compendio de la invención

30 La presente invención da a conocer una composición farmacéutica que comprende un carbamato de alcohol perilífico (POH) conjugado a un quimioterápico que se selecciona de un agente alquilante del ADN, un inhibidor de topoisomerasas, un agente inductor de sobrecarga del retículo endoplasmático, un compuesto de platino, un antimetabolito y rolipram. En determinadas realizaciones, los agentes terapéuticos son dimetilcelecoxib (DMC), temozolomida (TMZ) o rolipram. Los carbamatos de alcohol perilífico podrían ser 4-(bis-*N,N*-4-isopropenilciclohex-1-enilmetiloxicarbonil-[5-(2,5-dimetilfenil)-3-trifluorometilpirazol-1-il]bencenosulfonamida, éster de ácido 4-(3-ciclopentiloxi-4-metoxifenil)-2-oxopirrolidina-1-carboxílico y 4-isopropenilciclohex-1-enilmetilo, y éster de ácido 3-metil-4-oxo-3,4-dihidroimidazo[5,1-d][1,2,3,5]tetrazina-8-carbonil)-carbámico y 4-isopropenilciclohex-1-enilmetilo.

35 Las composiciones farmacéuticas de la presente invención se podrían administrar antes, durante o después de la radiación. Las composiciones farmacéuticas se podrían administrar antes, durante o después de la administración de un agente quimioterápico. Las vías de administración de las composiciones farmacéuticas incluyen inhalación o administración intranasal, intravenosa, subcutánea o intramuscular.

5 Se describe además un método para tratar una enfermedad en un mamífero, que comprende la etapa de introducir en el mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de un carbamato de alcohol perilílico. El método podría además comprender la etapa de tratar el mamífero con radiación y/o podría además comprender la etapa de administración de un quimioterápico al mamífero. Las enfermedades tratadas podrían ser cáncer, que incluye un tumor del sistema nervioso, tal como un glioblastoma. Las vías de administración del carbamato de alcohol perilílico incluyen la inhalación o la administración intranasal, oral, intravenosa, subcutánea o intramuscular.

10 La presente invención también da a conocer un procedimiento para fabricar un carbamato de POH, que comprende la etapa de hacer reaccionar un primer reactante de cloroformiato de perillilo con un segundo reactante, que podría ser dimetilcelecoxib (DMC), temozolomida (TMZ) o rolipram. Cuando el segundo reactante es el dimetilcelecoxib, la reacción se podría llevar a cabo en presencia de acetona y de un catalizador de carbonato de potasio. Cuando el segundo reactante es el rolipram, la reacción se podría realizar en presencia de tetrahidrofurano y de un catalizador de n-butillitio. El cloroformiato de perillilo también se podría preparar al hacer reaccionar el alcohol perilílico con fosgeno.

Breve descripción de los dibujos

15 En la figura 1 se muestran los resultados de los ensayos de citotoxicidad con MTT que demuestran la eficacia que tiene el dimetilcelecoxib (DMC) a la hora de destruir las células de glioma humano U87, A172 y U251.

En la figura 2 se muestran los resultados de los ensayos de citotoxicidad con MTT que demuestran la eficacia del conjugado POH-DMC a la hora de destruir las células de glioma humano U87, A172 y U251 de acuerdo con la presente invención.

20 En la figura 3 se muestran los resultados de los ensayos de citotoxicidad con MTT que demuestran la eficacia de la temozolomida (TMZ) a la hora de destruir las células de glioma humano U87, A172 y U251.

En la figura 4 se muestran los resultados de los ensayos de citotoxicidad con MTT que demuestran la eficacia del conjugado POH-TMZ a la hora de destruir las células de glioma humano U87, A172 y U251 de acuerdo con la presente invención.

25 En la figura 5 se muestran los resultados de los ensayos de citotoxicidad con MTT que demuestran la eficacia del conjugado POH-rolipram y del rolipram a la hora de destruir las células de glioma humano A172.

En la figura 6 se muestran los resultados de los ensayo de citotoxicidad con MTT que demuestran la eficacia del conjugado POH-rolipram y del rolipram a la hora de destruir las células de glioma humano U87.

30 En la figura 7 se muestran los resultados de los ensayos de citotoxicidad con MTT que demuestran la eficacia del conjugado POH-rolipram y del rolipram a la hora de destruir las células de glioma humano U251.

En la figura 8 se muestran los resultados de los ensayos de citotoxicidad con MTT que demuestran la eficacia del conjugado POH-rolipram y del rolipram a la hora de destruir las células de glioma humano L229.

35 En la figura 9 se muestra la inhibición del crecimiento tumoral debida al butiril-POH en los modelos de ratón. En la figura 9A se muestran las imágenes de los gliomas U-87 subcutáneos en los ratones atímicos tratados con butiril-POH, alcohol (S)-perilílico purificado que tiene una pureza de más del 98,5% («POH purificado»), POH comprado a Sigma Chemicals («Sigma») o solución salina tamponada con fosfato («PBS»; control negativo). En la figura 9B se muestra el crecimiento tumoral medio a lo largo del tiempo (la duración total es de 60 días).

40 En la figura 10 se muestran los resultados de un ensayo de formación de colonias (EFC) que demuestra el efecto citotóxico de la TMZ y de TMZ-POH en las células U251 sensibles a la TMZ (U251) y en las resistentes a la TMZ (U251TR).

En la figura 11 se muestran los resultados de un ensayo de formación de colonias (EFC) que demuestra el efecto citotóxico del POH en las células U251 sensibles a la TMZ (U251) y en las resistentes a la TMZ (U251TR).

En la figura 12 se muestran los resultados de los ensayos de citotoxicidad con MTT que demuestran la eficacia del conjugado POH-TMZ a la hora de destruir las células U251, las células U251TR y los astrocitos normales.

45 En la figura 13 se muestran los resultados de los ensayos de citotoxicidad con MTT que demuestran la eficacia del conjugado POH-TMZ a la hora de destruir los astrocitos normales, las células endoteliales cerebrales (BEC, por su nombre en inglés; confluentes y subconfluentes) y las células endoteliales cerebrales tumorales (TuBEC, por su nombre en inglés).

50 En la figura 14 se muestran los resultados de los ensayos de citotoxicidad con MTT que demuestran la eficacia de la TMZ y del conjugado POH-TMZ a la hora de destruir las células madre cancerosas de glioma USC-04.

En la figura 15 se muestran los resultados de los ensayos de citotoxicidad con MTT que demuestran la eficacia del POH a la hora de destruir las células madre cancerosas de glioma USC-04.

En la figura 16 se muestran los resultados de los ensayos de citotoxicidad con MTT que demuestran la eficacia de la TMZ y del conjugado POH-TMZ a la hora de destruir las células madre cancerosas de glioma USC-02.

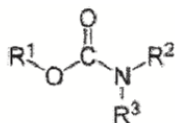
En la figura 17 se muestran los resultados de los ensayos de citotoxicidad con MTT que demuestran la eficacia del POH a la hora de destruir las células madre cancerosas de glioma USC-02.

- 5 En la figura 18 se muestra una transferencia de tipo Western que demuestra que TMZ-POH induce la sobrecarga del RE (SRE) en las células de glioma U251 sensibles («U251-TMZs») y resistentes («U251-TMZr») a la TMZ.

Descripción detallada de la invención

La presente invención da a conocer un derivado monoterpénico que es un carbamato de alcohol perilílico. El carbamato de alcohol perilílico está conjugado a un quimioterápico. El carbamato de alcohol perilílico se podría formular en una composición farmacéutica, en donde está presente en cantidades que oscilan de aproximadamente el 0,01% (p/p) a aproximadamente el 100% (p/p), de aproximadamente el 0,1% (p/p) a aproximadamente el 80% (p/p), de aproximadamente el 1% (p/p) a aproximadamente el 70% (p/p), de aproximadamente el 10% (p/p) a aproximadamente el 60% (p/p) o de aproximadamente el 0,1% (p/p) a aproximadamente el 20% (p/p). Las presentes composiciones se pueden administrar en monoterapia o se podrían coadministrar junto con radiación u otro agente (p. ej., un quimioterápico), para tratar una enfermedad, tal como el cáncer. Los tratamientos podrían ser secuenciales, en donde el carbamato de alcohol perilílico se administra antes o después de la administración de otros agentes. Por ejemplo, un carbamato de alcohol perilílico se podría utilizar para sensibilizar a un paciente con cáncer a la radiación o a la quimioterapia. Como alternativa, los agentes se podrían administrar a la vez. La vía de administración podría variar y puede incluir la inhalación o la inyección intranasal, oral, transdérmica, intravenosa, subcutánea o intramuscular. Además, se describe un método para tratar una enfermedad, tal como cáncer, que comprende la etapa de administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente eficaz del carbamato de alcohol perilílico.

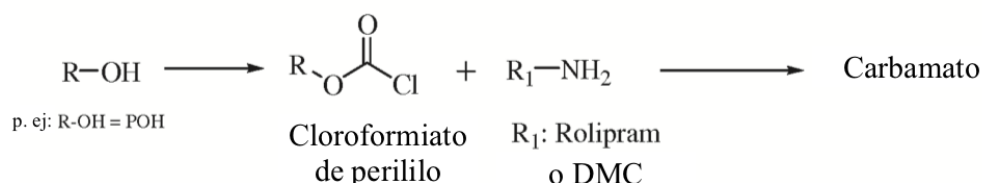
Las composiciones de la presente invención pueden contener alcohol perilílico (S(-)) y (R(+)). El término carbamato se refiere a una clase de compuestos químicos que comparten el grupo funcional



25 basado en un grupo carbonilo flanqueado por un oxígeno y un nitrógeno. R¹, R² y R³ puede ser un grupo, tal como alquilo, arilo, etc., que puede tener alguna sustitución. Los grupos R del nitrógeno y el oxígeno podrían formar un anillo. El R¹-OH podría ser un monoterpene, p. ej., POH. El resto R²-N-R³ podría ser un agente terapéutico.

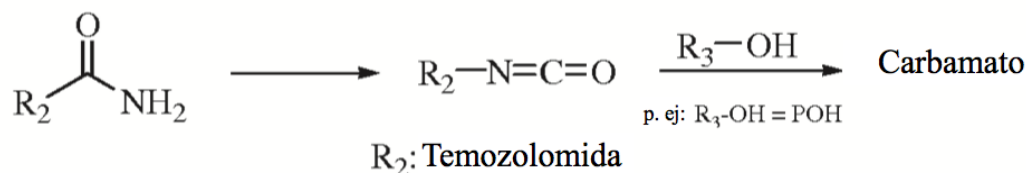
Los carbamatos se podrían sintetizar al hacer reaccionar isocianato y alcohol, o al hacer reaccionar cloroformiato con amina. Los carbamatos se podrían sintetizar gracias a reacciones que utilizan fosgeno o equivalentes del fosgeno. Por ejemplo, los carbamatos se podrían sintetizar al hacer reaccionar gas de fosgeno, difosgeno o un precursor sólido del fosgeno, tal como trifosgeno, con dos aminas, o una amina y un alcohol. Los carbamatos (también conocidos como uretanos) también se pueden generar con la reacción de un intermedio de urea con un alcohol. El carbonato de dimetilo y el carbonato de difenilo también se utilizan para fabricar carbamatos. Como alternativa, los carbamatos se podrían sintetizar a través de la reacción de alcohol y/ precursores de amina con un carbonato de diarilo con sustituciones en éster, tal como carbonato de bismetilsalicilo (BMSC, por su nombre en inglés). Publicación de patente de los EE. UU. n.º 20100113819.

Los carbamatos se podrían sintetizar mediante la siguiente estrategia:



40 Los solventes de reacción idóneos incluyen, pero sin limitarse a ellos, tetrahidrofurano, diclorometano, dicloroetano, acetona y éter diisopropílico. La reacción se podría realizar a una temperatura que oscile de -70 °C a aproximadamente 80 °C, o de aproximadamente -65 °C a aproximadamente 50 °C. La proporción molar de cloroformiato de perililo por el sustrato R-NH₂ podría oscilar de aproximadamente 1:1 a aproximadamente 2:1, de aproximadamente 1:1 a aproximadamente 1,5:1, de aproximadamente 2:1 a aproximadamente 1:1, o de aproximadamente 1,05:1 a aproximadamente 1,1:1. Las bases idóneas incluyen, pero sin limitarse a ellas, bases orgánicas, tales como trietilamina, carbonato de potasio, N,N-diisopropiletilamina, butil-litio y t-butoxido de potasio.

Como alternativa, los carbamatos se podrían sintetizar mediante la siguiente estrategia:



Los solventes de reacción idóneos incluyen, pero sin limitarse a ellos, diclorometano, dicloroetano, tolueno, éter diisopropílico y tetrahidrofurano. La reacción se podría llevar a cabo a una temperatura que oscila de aproximadamente 25 °C a aproximadamente 110 °C, o de aproximadamente 30 °C a aproximadamente 80 °C, o aproximadamente a 50 °C. La proporción molar de alcohol perilílico por el sustrato R-N=C=O podría oscilar de aproximadamente 1:1 a aproximadamente 2:1, de aproximadamente 1:1 a aproximadamente 1,5:1, de aproximadamente 2:1 a aproximadamente 1:1, o de aproximadamente 1,05:1 a aproximadamente 1,1:1.

En determinadas realizaciones, se sintetiza un carbamato de POH mediante un procedimiento que comprende la etapa de hacer reaccionar un primer reactante de cloroformiato de perililo con un segundo reactante, tal como dimetilcelecoxib (DMC), temozolomida (TMZ) y rolipram. La reacción se podría llevar a cabo en presencia de tetrahidrofurano y una base, tal como n-butil-litio. El cloroformiato de perililo se podría fabricar al hacer reaccionar el POH con fosgeno. Por ejemplo, el POH conjugado con temozolomida a través de un enlace de carbamato se podría sintetizar al hacer reaccionar la temozolomida con cloruro de oxalilo seguido de la reacción con el alcohol perilílico. La reacción se podría llevar a cabo en presencia de 1,2-dicloroetano.

Los carbamatos de POH abarcados por la presente invención incluyen, pero sin limitarse a ellos, 4-(bis-N,M-4-isopropenilciclohex-1-enilmetiloxicarbonil-[5-(2,5-dimetilfenil)-3-trifluorometilpirazol-1-il]bencenosulfonamida, éster de ácido 4-(3-ciclopentiloxi-4-metoxifenil)-2-oxopirrolidina-1-carboxílico y 4-isopropenilciclohex-1-enilmetilo, y éster de ácido (3-metil-4-oxo-3,4-dihidroimidazo[5,1-d][1,2,3,5]tetrazina-8-carbonil)carbámico y 4-isopropenilciclohex-1-enilmetilo. Los detalles de las reacciones químicas que generan estos compuestos se describen en los ejemplos que vienen a continuación.

Un conjugado de POH abarcado por la presente invención es un POH unido covalentemente a través de un grupo químico enlazante a un agente terapéutico. La proporción molar del POH por el agente terapéutico en el conjugado podría ser 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 2:1, 3:1, 4:1 o cualesquiera otras proporciones molares idóneas. El POH y el agente terapéutico están unidos covalentemente a través del carbamato. El agente terapéutico podría ser cualquier agente que lleve al menos un grupo funcional de ácido carboxílico o cualquier agente que lleve al menos un grupo funcional de amina. En un ejemplo específico, un conjugado de alcohol perilílico es el alcohol perilílico unido covalentemente a través de un grupo químico enlazante a un quimioterápico.

Los agentes contra el cáncer que se podrían conjugar con el POH pueden tener uno o varios de los siguientes efectos sobre las células cancerosas o sobre el sujeto: muerte celular; disminución de la proliferación celular; disminución del número de células; inhibición del crecimiento celular; apoptosis; necrosis; catástrofe mitótica; parada del ciclo celular; disminución del tamaño celular; disminución de la división celular; disminución de la supervivencia celular; disminución del metabolismo celular; marcadores de daño celular o citotoxicidad; indicadores indirectos de daño celular o citotoxicidad, tales como reducción tumoral; mejoría de la supervivencia de un sujeto; o desaparición de los marcadores asociados a la proliferación celular indeseable, indeseada o aberrante. Publicación de patente de los EE. UU. n.º 20080275057.

Los quimioterápicos son alquilantes del ADN, inhibidores de las topoisomerasas, inductores de la sobrecarga del retículo endoplasmático, un compuesto de platino, un antimetabolito o el rolipram.

Los ejemplos no limitantes de alquilantes del ADN son clometinas, tales como ciclofosfamida (ifosfamida, trofosfamida), clorambucilo (melfalán, prednimustina), bendamustina, uramustina y estramustina; nitrosureas, tales como carmustina (BCNU), lomustina (semustina), fotemustina, nimustina, ranimustina y estreptozocina; sulfonatos de alquilo, tal como busulfano (manosulfano, treosulfano); aziridinas, tales como carbocina, triazicuona, trietilenmelamina, hidrazinas (procarbazona); triazenos, tales como dacarbazina y temozolomida (TMZ), altretamina y mitobronitol.

Los ejemplos no limitantes de inhibidores de la topoisomerasa I incluyen los derivados de la camptotecina, que incluyen SN-38, APC, NPC, camptotecina, topotecán, mesilato de exatecán, 9-nitrocampotecina, 9-aminocampotecina, lurtotecán, rubitecán, silatecán, gimatecán, diflomotecán, extatecán, BN-80927, DX-8951f y MAG-CPT, tal y como se describe en Pommier Y. (2006) *Nat. Rev. Cancer* 6 (10): 789-802 y la publicación de patente de los EE. UU. n.º 200510250854; alcaloides de protoberberina y derivados de los mismos, que incluyen berberrubina y coralina, tal y como se describe en Li et al. (2000) *Biochemistry* 39 (24): 7107-7116 y Gatto et al. (1996) *Cancer Res.* 15 (12): 2795-2800; derivados de fenantrolina, entre ellos benzo[*i*]fenantridina, nitidina y fagaronina, tal y como se describe en Makhey et al. (2003) *Bioorg. Med. Chem.* 11 (8): 1809-1820; terbencimidazol y

derivados del mismo, tal y como se describe en Xu (1998) *Biochemistry* 37 (10): 3558-3566; y derivados de I antraciclina, entre ellos doxorubicina, daunorubicina y mitoxantrona, tal y como se describe en Foglesong et al. (1992) *Cancer Chemother. Pharmacol.* 30 (2): 123-125, Crow et al. (1994) *J. Med. Chem.* 37 (19): 3191-3194, y Crespi et al. (1986) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 136 (2): 521-8. Los inhibidores de la topoisomerasa II incluyen, pero sin limitarse a ellos, etopósido y tenipósido. Los inhibidores dobles de la topoisomerasa I y de la II incluyen, pero sin limitarse a ellos, saintopina y otras naftecenodionas, DACA y otras acridina-4-carboxamidas, intopicina y otros benzopiridoindoles, TAS-I03 y otras 7H-indeno[2,1-c]quinolina-7-onas, pirazoloacridina, XR 11576 y otras benzofenazinas, XR 5944 y otros compuestos diméricos, 7-oxo-7H-dibenz[f,i,j]isoquinolinas y 7-oxo-7H-benzo[e]pirimidinas, y conjugados de aminoácido y antraceno, tal y como se describe en Denny y Baguley (2003) *Curr. Top. Med. Chem.* 3 (3): 339-353. Algunos agentes inhiben la topoisomerasa II y tienen actividad intercalante en el ADN, tales como, pero sin limitarse a ellos, antraciclina (aclorubicina, daunorubicina, doxorubicina, epirubicina, idarubicina, amrubicina, pirarubicina, valrubicina, zorubicina) y antraceno (mitoxantrona y pixantrona).

Los ejemplos de agentes inductores de sobrecarga del retículo endoplasmático incluyen, pero sin limitarse a ellos, dimetilcelecoxib (DMC), nelfinavir, celecoxib y radiosensibilizadores de boro (a saber, velcade (Bortezomib)).

Los compuestos a base de platino son una subclase de alquilantes del ADN. Los ejemplos no limitantes de tales agentes incluyen cisplatino, nedaplatino, oxaliplatino, tetranitrato de triplatino, satraplatino, aroplatino, lobaplatino y JM-216 (véase McKeage et al. (1997) *J. Clin. Oncol.* 201: 1232-1237 y en general, «Chemotherapy for gynecological neoplasm, Current therapy and novel approaches», en *Series Basic and Clinical Oncology*, Angioli et al. eds., 2004).

«FOLFOX» es una abreviatura para un tipo de politerapia que se utiliza para tratar el cáncer colorrectal. Incluye 5-FU, oxaliplatino y leucovorina. La información con respecto a este tratamiento está disponible en el sitio web del National Cancer Institute, cancer.gov, último acceso el 16 de enero de 2008.

«FOLFOX/BV» es una abreviatura para un tipo de politerapia que se utiliza para tratar el cáncer colorrectal. Esta terapia incluye 5-FU, oxaliplatino, leucovorina y bevacizumab. Además, «XELOX/BV» es otra politerapia utilizada para tratar el cáncer colorrectal, que incluye el profármaco del 5-FU, conocido como capecitabina (Xeloda) en combinación con oxaliplatino y bevacizumab. La información con respecto a estos tratamientos está disponible en el sitio web del National Cancer Institute, cancer.gov, o en el sitio web del 23 National Comprehensive Cancer Network, nccn.org, último acceso el 27 de mayo de 2008.

Los ejemplos no limitantes de antimetabolitos incluyen los basados en el ácido fólico, a saber, inhibidores de la dihidrofolato reductasa, tal como aminopterina, metotrexato y pemetrexed; inhibidores de la timidilato sintasa, tales como raltitrexed, pemetrexed; basados en purinas, a saber, inhibidor de la adenosina desaminasa, tal como pentostatina, una tiopurina, tal como tioguanina y mercaptopurina, un inhibidor halogenado de la ribonucleótido reductasa, tal como cladribina, clofarabina, fludarabina, o una guanina/guanosina: tiopurina, tal como tioguanina; o basados en pirimidina, a saber, citosina/citidina; agente hipometilante, tal como azacitidina y decitabina, un inhibidor de la ADN polimerasa, tal como citarabina, un inhibidor de la ribonucleótido reductasa, tal como gemcitabina o una timina/timidina: inhibidor de la timidilato sintasa, tal como fluorouracilo (5-FU). Los equivalentes de 5-FU incluyen profármacos, análogos y derivados del mismo, tales como 5'-desoxi-5-fluorouridina (doxifluridina), 1-tetrahidrofuranyl-5-fluorouracilo (ftorafur), capecitabina (Xeloda), S-I (MBMS-247616, que consiste en tegafur y dos moduladores, 5-cloro-2,4-dihidroxipiridina y oxonato de potasio), raltitrexed (tomudex), nolatrexed (Thymitaq, AG337), LY231514 y ZD9331, tal y como se describe por ejemplo en Papamicheal (1999) *The Oncologist* 4: 478-487.

La pureza de los derivados monoterpénicos se podría analizar por cromatografía de gases (GC) o cromatografía líquida de alta presión (HPLC). Otras técnicas para analizar la pureza de los derivados monoterpénicos y para determinar la presencia de las impurezas incluyen, pero sin limitarse a ellas, espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN), espectrometría de masas (MS), GC-MS, espectroscopia de infrarrojos (IR) y cromatografía en capa fina (TLC). La pureza quiral se puede valorar por GC quiral o con la medición de la rotación óptica.

Los derivados monoterpénicos se podrían purificar por métodos tales como la cristalización o mediante la separación del derivado monoterpénico de las impurezas de acuerdo con las propiedades fisicoquímicas únicas (p. ej., solubilidad o polaridad) del derivado. Por consiguiente, el derivado monoterpénico se puede separar del monoterpeno mediante las técnicas de separación idóneas conocidas en el campo, tales como cromatografía preparativa, destilación (fraccionada) o cristalización (fraccionada).

También se describen métodos para utilizar derivados monoterpénicos para tratar una enfermedad, tal como el cáncer. Un derivado monoterpénico se podría administrar en monoterapia, o en combinación con radiación, intervención quirúrgica o quimioterápicos. Un derivado monoterpénico también se podría coadministrar con antiviricos, antiinflamatorios o antibióticos. Los agentes se podrían administrar a la vez o secuencialmente. Un derivado monoterpénico se puede administrar antes, durante o después de la administración del otro u otros agentes activos.

El derivado monoterpénico se podría utilizar en combinación con la radioterapia. Además, se describe un método para tratar las células tumorales, tales como las células de glioma maligno, con radiación, en donde las células se

tratan con una cantidad eficaz de un derivado monoterpénico, tal como un carbamato de alcohol perilífico, y a continuación se exponen a la radiación. El tratamiento con el derivado monoterpénico podría ser antes, durante y/o después de la radiación. Por ejemplo, el derivado monoterpénico se podría administrar de forma continua empezando una semana antes del inicio de la radioterapia y continuarlo durante dos semanas después de terminar la radioterapia. Patentes de los EE. UU. n.ºs 5.587.402 y 5.602.184.

Se describe adicionalmente un método para tratar las células tumorales, tales como las células de glioma maligno, con quimioterapia, en donde las células se tratan con una cantidad eficaz de un derivado monoterpénico, tal como un carbamato de alcohol perilífico, y a continuación se exponen a la quimioterapia. El tratamiento con el derivado monoterpénico podría ser antes, durante y/o después de la quimioterapia.

Los cánceres que se pueden tratar con los presentes derivados monoterpénicos incluyen, pero sin limitarse a ellos, cáncer de pulmón, de oído, de nariz y de garganta, leucemia, cáncer de colon, melanoma, cáncer de páncreas, cáncer mamario, cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer hematopoyético, cáncer de ovario, carcinoma de células basales, cáncer de las vías biliares; cáncer de vejiga; cáncer de hueso; cáncer de mama; cáncer cervicouterino; coriocarcinoma; cáncer de colon y de recto; cáncer del tejido conjuntivo; cáncer del aparato digestivo; cáncer de endometrio; cáncer de esófago; cáncer del ojo; cáncer de cabeza y cuello; cáncer de estómago; neoplasia intraepitelial; cáncer de riñón; cáncer de laringe; leucemia que incluye leucemia mielógena aguda, leucemia linfocítica aguda, leucemia mielógena crónica, leucemia linfocítica crónica; cáncer de hígado; linfoma entre ellos el linfoma de Hodgkin y no de Hodgkin; mieloma; fibroma; neuroblastoma; cáncer de la cavidad oral (p. ej., labios, lengua, boca y faringe); cáncer de ovario; cáncer de páncreas; cáncer de próstata; retinoblastoma; rhabdomyosarcoma; cáncer rectal; cáncer de riñón; cáncer del aparato respiratorio; sarcoma; cáncer de piel; cáncer de estómago; cáncer de testículo; cáncer de tiroides; cáncer de útero; cáncer del aparato urinario, así como otros carcinomas y sarcomas. Patente de los EE. UU. n.º 7.601.355.

La presente composición se podría administrar mediante cualquier método conocido en la técnica, que incluye, sin limitación, la administración intranasal, oral, transdérmica, ocular, intraperitoneal, inhalación, intravenosa, ICV, inyección intracisternal o infusión, administración subcutánea, implante, administración vaginal, sublingual, uretral (p. ej., supositorio uretral), subcutánea, intramuscular, intravenosa, rectal, sublingual, mucosa, oftálmica, espinal, intratecal, intraarticular, intraarterial, subaracnoidea, bronquial y linfática. La formulación tópica podría ser en forma de gel, ungüento, crema, aerosol, etc.; la formulación intranasal se podría introducir como una pulverización o en una gota; la formulación transdérmica se podría administrar a través de un parche transdérmico o iontoforesis; la formulación para inhalación se puede administrar con un nebulizador o un dispositivo similar. Las composiciones también pueden tomar la forma de comprimidos, píldoras, cápsulas, semisólidos, polvos, formulaciones de liberación prolongada, soluciones, suspensiones, elixires, aerosoles o cualquier otra composición adecuada.

Para preparar tales composiciones farmacéuticas, uno o varios de los derivados monoterpénicos se podrían mezclar con un vehículo, adyuvante y/o excipiente farmacéuticamente aceptable, de acuerdo con las técnicas farmacéuticas convencionales de formulación. Los vehículos farmacéuticamente aceptables que se pueden utilizar en las presentes composiciones abarcan cualquiera de los vehículos farmacéuticos estándares, tales como una solución salina tamponada con fosfato, agua y emulsiones, tales como una emulsión de aceite/agua o de agua/aceite, y diferentes tipos de agentes humectantes. Las composiciones pueden adicionalmente contener excipientes farmacéuticos sólidos, tales como almidón, celulosa, talco, glucosa, lactosa, sacarosa, gelatina, malta, arroz, harina, yeso, gel de sílice, estearato de magnesio, estearato de sodio, monestearato de glicerol, cloruro de sodio, leche desnatada en polvo, y similares. Los excipientes líquidos y semisólidos se podrían seleccionar de glicerol, propilenglicol, agua, etanol y diversos aceites, entre ellos los que proceden del petróleo, o de animales, de vegetales, o sintéticos; p. ej., aceite de cacahuete, aceite de soja, aceite mineral, aceite de sésamo, etc. Los vehículos líquidos, en particular para soluciones inyectables, incluyen agua, disolución salina, dextrosa acuosa y glicoles. Para ver ejemplos de vehículos, estabilizantes y adyuvantes, véase *Remington's Pharmaceutical Sciences*, editado por E. W. Martin (Mack Publishing Company, 18.ª ed., 1990). Las composiciones también pueden incluir estabilizantes y conservantes.

Tal y como se utiliza en la presente memoria, la terminología «cantidad terapéuticamente eficaz» es una cantidad suficiente para tratar un trastorno o enfermedad específicos, o, como alternativa, obtener una respuesta farmacológica al tratar un trastorno o enfermedad. Los métodos para determinar los medios más eficaces y la dosificación de la administración pueden variar con la composición utilizada para el tratamiento, el propósito del tratamiento, la célula que se desea tratar, y el sujeto a tratar. Las dosis del tratamiento por lo general se podrían titular para optimizar su seguridad y su eficacia. Se pueden realizar administraciones únicas o múltiples siguiendo el nivel de dosis o el patrón que seleccione el médico que lleva el tratamiento. Las formulaciones de dosis idóneas y los métodos para administrar los agentes los pueden determinar con facilidad los expertos en la técnica. Por ejemplo, la composición se administra de aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 200 mg/kg, de aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 100 mg/kg, o de aproximadamente 0,5 mg/kg a aproximadamente 50 mg/kg. Cuando los compuestos que se describen en la presente memoria se coadministran con otro agente o terapia, la cantidad eficaz podría ser menor que cuando el agente se utiliza en monoterapia.

Las formulaciones transdérmicas se podrían preparar mediante la incorporación del agente activo en un vehículo tixótrofo o gelatinoso, tal como un medio celulósico, p. ej., metilcelulosa o hidroxietilcelulosa, en donde la

formulación resultante se envasa en un dispositivo transdérmico adaptado para ser seguro en contacto dérmico con la piel del usuario. Si la composición es en forma de gel, la composición se puede restregar por una membrana del paciente, por ejemplo, la piel, preferiblemente piel intacta, limpia y seca, del hombro o de la parte superior del brazo o del torso superior, y mantenerla allí durante un periodo de tiempo suficiente para que el derivado monoterpénico entre en el suero sanguíneo del paciente. La composición de la presente invención en forma de gel podría estar contenida en un tubo, una bolsa o una bomba calibrada. Tal tubo o bolsa podría contener una dosis unitaria o más de una dosis unitaria, de la composición. Una bomba calibrada podría ser capaz de dispensar una dosis medida de la composición.

Esta invención también da a conocer las composiciones tal y como se describen más arriba para la administración intranasal. Como tales, las composiciones pueden además comprender un potenciador de permeabilidad. Southall et al. *Developments in Nasal Drug Delivery*, 2000. El derivado monoterpénico se puede administrar por vía intranasal en una forma líquida, tal como una solución, una emulsión, una suspensión, gotas, o en forma sólida, tal como un polvo, gel o ungüento. Los dispositivos para administrar las medicaciones por vía intranasal se conocen bien en la técnica. La administración intranasal del fármaco se puede llevar a cabo con dispositivos que incluyen, pero sin limitarse a ellos, inhaladores intranasales, dispositivos de pulverización intranasal, atomizadores, botellas de pulverización nasal, contenedores de dosis unitarias, bombas, cuentagotas, botellas apretables atomizadoras, nebulizantes, inhaladores de dosis medidas (IDM), inhaladores de dosis presurizada, insufladores y dispositivos bidireccionales. El dispositivo para la administración nasal se puede graduar para que administre a la cavidad nasal una cantidad precisa de dosis eficaz. El dispositivo de administración nasal puede ser para la administración de una única dosis o la administración de varias dosis. En un ejemplo específico, se puede utilizar en esta invención el atomizador electrónico ViaNase de Kurve Technology (Bethell, Washington) (<http://www.kurveotech.com>). Los compuestos de la presente invención también podrían administrarse por medio de un tubo, un catéter, una jeringuilla, una bolsita, una compresita, un tampón nasal, o por infusión submucosa. Publicaciones de patente de los EE. UU. n.ºs 20090326275, 20090291894, 20090281522 y 20090317377.

El derivado monoterpénico se puede formular como aerosoles mediante los procedimientos estándares. El derivado monoterpénico se podría formular con o sin solventes, y se podría formular con o sin vehículos. La formulación podría ser una solución o podría ser una emulsión acuosa con uno o varios tensioactivos. Por ejemplo, se puede generar un pulverizador de aerosoles a partir del contenedor presurizado con un propulsor adecuado, tal como diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, hidrocarburos, aire comprimido, nitrógeno, dióxido de carbono u otro gas adecuado. La unidad de dosis se puede determinar proporcionando una válvula para administrar una cantidad medida. Las bombas dispensadoras de aerosoles pueden dispensar una dosis medida o una dosis que tiene una partícula o un tamaño de gota específicos. Tal y como se utiliza en la presente memoria, el término «aerosol» se refiere a una suspensión de partículas sólidas finas o gotas de solución líquida en un gas. Específicamente, un aerosol incluye una suspensión de gotas de un monoterpéno dentro de un gas que se puede producir en cualquier dispositivo adecuado, tal como un IDM, un nebulizador o un difusor de vaho. El aerosol también incluye una composición de polvo seco de la composición de la presente invención suspendida en aire o en otro vehículo gaseoso. Gonda (1990) *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems* 6: 273-313. Raeburn et al. (1992) *Pharmacol. Toxicol. Methods*. 27: 143-159.

El derivado monoterpénico se podría introducir en la cavidad nasal como un polvo en una forma tal como microesferas administradas mediante un insuflador nasal. El derivado monoterpénico se podría absorber a una superficie sólida, por ejemplo, un vehículo. El polvo o las microesferas se podrían administrar en una forma seca dispensable por el aire. El polvo o las microesferas se podrían conservar en un contenedor o insuflador. Como alternativa, con el polvo o las microesferas se podría llenar una cápsula, tal como una cápsula de gelatina, u otra unidad de dosis única adaptada para la administración nasal.

La composición farmacéutica se puede administrar a la cavidad nasal mediante la colocación directa de la composición en la cavidad nasal, por ejemplo, en forma de un gel, un ungüento, una emulsión nasal, una loción, una crema, un tampón nasal, un cuentagotas o una tira bioadhesiva. En determinadas realizaciones, puede ser deseable prolongar el tiempo de permanencia de la composición farmacéutica en la cavidad nasal, por ejemplo, para mejorar la absorción. Así pues, la composición farmacéutica puede opcionalmente formularse con un polímero bioadhesivo, una goma (p. ej., goma de xantano), quitosán (p. ej., polisacárido catiónico muy purificado), pectina (o cualquier glúcido que se espesa como un gel, o que se emulsiona cuando se aplica a la mucosa nasal), una microesfera (p. ej., almidón, albúmina, dextrano, ciclodextrina), gelatina, un liposoma, carbámero, alcohol de polivinilo, alginato, goma arábiga, quitosanos y/o celulosa (p. ej., metilo o propilo; hidroxilo o carboxi; carboximetilo o hidroxilpropilo).

La composición que contiene el monoterpéno purificado se puede administrar mediante la inhalación oral en las vías respiratorias, a saber, los pulmones.

Los sistemas de administración típicos para los agentes inhalables incluyen inhaladores de nebulizados, inhaladores de polvo seco (IPS) e inhaladores de dosis medida (IDM).

Los dispositivos de nebulización producen una corriente de aire a gran velocidad que hace que un agente terapéutico en forma de líquido se pulverice como un vaho. El agente terapéutico está formulado en forma de líquido, tal como una solución o una suspensión de partículas del tamaño adecuado. En una realización, las partículas están

micronizadas. El término «micronizado» se define por tener aproximadamente el 90% o más de las partículas con un diámetro de menos de aproximadamente 10 µm. Los dispositivos nebulizadores idóneos están disponibles en el mercado, por ejemplo, en PARI GmbH (Starnberg, Alemania). Otros dispositivos nebulizadores incluyen Respimat (Boehringer Ingelheim) y los descritos en, por ejemplo, las patentes de los EE. UU. n.ºs 7.568.480 y 6.123.068, y la solicitud de patente internacional WO 97/12687. Los monoterpenos se pueden formular para ser usados en un dispositivo nebulizador como una solución acuosa o como una suspensión líquida.

Los dispositivos de IPS administran típicamente un agente terapéutico en forma de un polvo suelto que se puede dispersar en una corriente de aire del paciente durante la inspiración. Los dispositivos de IPS que utilizan una fuente externa de energía también se pueden utilizar en la presente invención. Para conseguir un polvo suelto, el agente terapéutico se formulará con un excipiente idóneo (p. ej., lactosa). Una formulación de polvo seco se puede fabricar, por ejemplo, mediante la combinación de lactosa seca que tiene un tamaño de partículas entre aproximadamente 1 µm y 100 µm, con partículas micronizadas de los monoterpenos y una mezcla seca. Como alternativa, el monoterpeno se puede formular sin excipientes. La formulación se carga en un dispensador de polvo seco o en cartuchos o cápsulas de inhalación para ser usados con un dispositivo de administración polvo seco. Los ejemplos de dispositivos de IPS disponibles en el mercado incluyen Diskhaler (GlaxoSmithKline, Research Triangle Park, N.C.) (véase, p. ej., la patente de los EE. UU. n.º 5.035.237); Diskus (GlaxoSmithKline) (véase, p. ej., la patente de los EE. UU. n.º 6.378.519); Turbuhaler (AstraZeneca, Wilmington, Del.) (véase, p. ej., la patente de los EE. UU. n.º 4.524.769); y Rotahaler (GlaxoSmithKline) (véase, p. ej., la patente de los EE. UU. n.º 4.353.365). Otros ejemplos de dispositivos de IPS idóneos se describen en las patentes de los EE. UU. n.ºs 5.415.162, 5.239.993 y 5.715.810, y las referencias en estas.

Los dispositivos de IDM descargan típicamente una cantidad medida del agente terapéutico mediante el uso de un gas propulsor comprimido. Las formulaciones para la administración con IDM incluyen una solución o suspensión del ingrediente activo en un propulsor licuado. Los ejemplos de propulsores incluyen hidrofluoroalcanos (HFA), tales como 1,1,1,2-tetrafluoroetano (HFA 134a) y 1,1,1,2,3,3,3-heptafluoro-n-propano, (HFA 227), y clorofluorocarbonados, tales como CCl₃F. Otros componentes de las formulaciones de HFA para la administración con IDM incluyen codisolventes, tales como etanol, pentano, agua; y tensioactivos, tales como trioleato de sorbitano, ácido oleico, lecitina y glicerina (véase, por ejemplo, la patente de los EE. UU. n.º 5.225.183, la patente europea EP 0717987 y la solicitud de patente internacional WO 92/22286). La formulación se carga en un cartucho para aerosol, que forma parte de un dispositivo de IDM. Los ejemplos de dispositivos de IDM desarrollados específicamente para ser usados con propulsores de HFA se dan a conocer en las patentes de los EE. UU. n.ºs 6.006.745 y 6.143.227. Para los ejemplos de procesos de preparación de formulaciones idóneas y dispositivos idóneos para la dosificación de la inhalación, véanse las patentes de los EE. UU. n.ºs 6.268.533, 5.983.956, 5.874.063 y 6.221.398 y las solicitudes de patente internacional WO 99/53901, WO 00/61108, WO 99/55319 y WO 00/30614.

El derivado monoterpénico se podría encapsular en liposomas o microcápsulas para administrarlo por inhalación. Un liposoma es una vesícula compuesta por una membrana de bicapa lipídica y un interior acuoso. La membrana lipídica puede estar hecha de fosfolípidos, de los cuales constituyen ejemplos fosfatidilcolina, tal como lecitina y lisolecitina; fosfolípidos ácidos, tales como fosfatidilserina y fosfatidilglicerol; y esfingofosfolípidos, tales como fosfatidiletanolamina y esfingomielina. Como alternativa, se le podría añadir colesterol. Una microcápsula es una partícula revestida con un material de revestimiento. Por ejemplo, el material de revestimiento puede consistir en una mezcla de un polímero formador de películas, un plastificante hidrófobo, un agente activador de la superficie y/o un polímero lubricante que contiene nitrógeno. Patentes de los EE. UU. n.ºs 6.313.176 y 7.563.768.

El derivado monoterpénico puede también utilizarse en monoterapia o en politerapia con otros quimioterápicos a través de la aplicación tópica para el tratamiento de cánceres localizados, tales como el cáncer de mama o los melanomas. El derivado monoterpénico también se podría utilizar en combinación con opioides o analgésicos para la administración por vía transdérmica de la medicación para el dolor.

Esta invención también da a conocer las composiciones como las descritas más arriba para la administración ocular. Como tal, las composiciones pueden además comprender un potenciador de la penetración. Para la administración ocular, las composiciones descritas en la presente memoria se pueden formular como una solución, emulsión, suspensión, etc. Se conocen en la técnica una serie de vehículos idóneos para la administración de compuestos al ojo. Los ejemplos no limitantes específicos se describen en las patentes de los EE. UU. n.ºs 6.261.547; 6.197.934; 6.056.950; 5.800.807; 5.776.445; 5.698.219; 5.521.222; 5.403.841; 5.077.033; 4.882.150 y 4.738.851.

El derivado monoterpénico se puede dar como monoterapia o en politerapia con otros fármacos para el tratamiento de las enfermedades anteriores durante un periodo de tiempo corto o prolongado. Las presentes composiciones se pueden administrar a un mamífero, preferiblemente a un humano. Los mamíferos incluyen, pero sin limitarse a ellos, ratones, ratas, conejos, simios, bóvidos, ovejas, cerdos, perros, félidos, animales de granja, animales de competición, mascotas, équidos y primates.

Además se describe un método para inhibir el crecimiento de una célula *in vitro*, *ex vivo* o *in vivo*, en donde una célula, tal como una célula cancerosa, se pone en contacto con una cantidad eficaz del derivado monoterpénico tal y como se describe en la presente memoria.

Las células o el tejido patológicos, tales como células o tejido hiperproliferativos, se podrían tratar al poner en contacto las células o el tejido con una cantidad eficaz de una composición de esta invención. Las células, tales como las células cancerosas, pueden ser células de cáncer primario o pueden ser células cultivadas disponibles de bancos de tejidos, tales como la American Type Culture Collection (ATCC). Las células patológicas pueden ser células de un cáncer sistémico, gliomas, meningiomas, adenomas hipofisarios o una metástasis del SNC de un cáncer sistémico, cáncer de pulmón, cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer hematopoyético o cáncer de ovario. Las células puede ser de un vertebrado, preferiblemente de un mamífero, más preferiblemente de un humano. Publicación de patente de los EE. UU. n.º 2004/0087651. Balassiano et al. (2002) *Intern. J. Mol. Med.* 10: 785-788. Thorne et al. (2004) *Neuroscience* 127: 481-496. Fernandes et al., (2005) *Oncology Reports* 13: 943-947. Da Fonseca et al. (2008) *Surgical Neurology* 70: 259-267. Da Fonseca et al. (2008) *Arch. Immunol. Ther. Exp.* 56: 267-276. Hashizume et al. (2008) *Neurooncology* 10: 112-120.

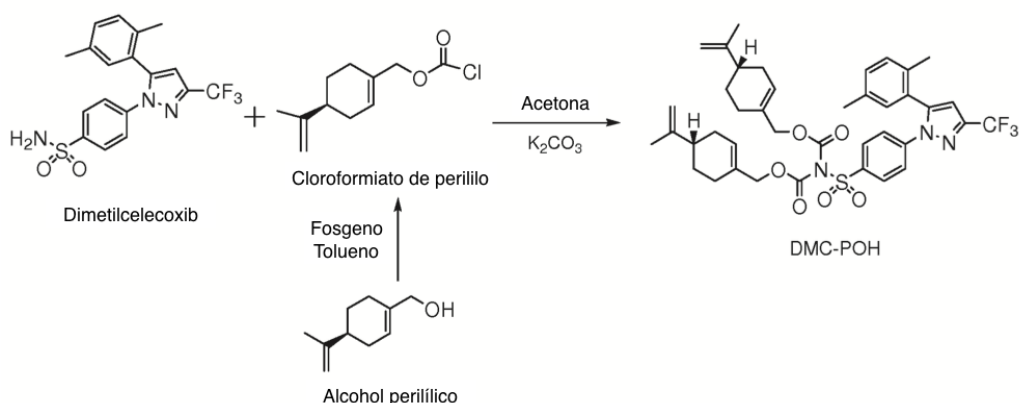
La eficacia *in vitro* de la presente composición se puede determinar con los métodos bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, la citotoxicidad del presente monoterpreno y/o agentes terapéuticos se podría estudiar mediante el ensayo de citotoxicidad con MTT [bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio]. El ensayo con MTT se basa en el principio de la captación del MTT, una sal de tetrazolio, por las células con un metabolismo activo, en las que se metaboliza en un producto de formazano de color azul que se puede leer en un espectrómetro. *J. Of Immunological Methods* 65: 55-63, 1983. La citotoxicidad de presente derivado monoterpénico y/o los agentes terapéuticos se podría estudiar mediante el ensayo de formación de colonias. Los ensayos funcionales para la inhibición de la secreción del FCEV y la secreción de la IL-8 se podrían realizar por ELISA. El bloqueo del ciclo celular mediante el presente derivado monoterpénico y/o los agentes terapéuticos se podría estudiar mediante tinción con yoduro de propidio (PI, por su nombre en inglés) estándar y citometría de flujo. La inhibición de la invasión se podría estudiar mediante cámaras de Boyden. En este ensayo, una capa de la membrana basal reconstituida, Matrigel, se usa para revestir filtros de quimiotaxia y actúa como una barrera contra la migración de células en las cámaras de Boyden. Sólo las células con capacidad invasiva consiguen atravesar la barrera Matrigel. Otros ensayos incluyen, pero sin limitarse a ellos, ensayos de viabilidad celular, ensayos de la apoptosis y ensayos morfológicos.

Los siguientes son ejemplos de la presente invención y no se deben considerar como limitantes.

Ejemplos

Ejemplo 1: Síntesis de la dimetilcelecoxib-bis-(carbamato de POH) (4-(bis-*N,N*-4-isopropenilciclohex-1-enilmetiloxicarbonil-[5-(2,5-dimetilfenil)-3-trifluorometilpirazol-1-il]bencenosulfonamida)

El esquema de reacción es el siguiente:



Se añadió fosgeno (20% en tolueno, 13 ml, 26,2 mmol) a una mezcla de alcohol perilífico (2,0 g, 13,1 mmol) y carbonato de potasio (5,4 g, 39,1 mmol) en tolueno seco (30 ml) durante un margen de 30 minutos al mismo tiempo que se mantenía la temperatura entre 10 °C y 15 °C. La mezcla de reacción se dejó templar a temperatura ambiente y se agitó durante 8,0 horas en N₂. La mezcla de reacción se paró con agua (30 ml) y se separó la capa orgánica. La capa acuosa se extrajo con tolueno (20 ml) y la capa orgánica combinada se lavó con agua (50 ml x 2), salmuera (15%, 30 ml) y se secó sobre sulfato de sodio (20 g). La capa orgánica filtrada se concentró al vacío para dar cloroformiato de perililo como un aceite. Peso: 2,5 g; rendimiento: 89%. ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 1,5 (m, 1H), 1,7 (s, 3H), 1,8 (m, 1H), 2,0 (m, 1H), 2,2 (m, 4H), 4,7 (dd, 4H); 5,87 (m, 1H).

El cloroformiato de perililo (0,11 g, 0,55 mmol) se añadió lentamente a una mezcla de dimetilcelecoxib (0,2 g, 0,50 mmol) y carbonato de potasio (0,13 g, 1,0 mmol) en acetona seca (10 ml) durante un margen de 5 minutos en N₂. La mezcla de reacción se calentó a reflujo y se mantuvo durante 3 horas. Ya que el análisis por TLC indicó la presencia de dimetilcelecoxib (>60%), se añadió otro 1,0 equivalente de cloroformiato de perililo y se sometió a reflujo durante 5 horas más. Se enfrió la mezcla de reacción y se concentró la acetona al vacío para dar un residuo.

El residuo resultante se suspendió en agua (15 ml) y se extrajo con acetato de etilo (3 × 15 ml). La capa orgánica combinada se lavó con agua (20 ml) y luego con salmuera (15%, 20 ml), y se secó sobre sulfato de sodio. La capa orgánica filtrada se concentró al vacío para dar un residuo que se purificó mediante cromatografía en columna [dimensiones de la columna: diámetro: 1,5 cm, altura: 10 cm, sílice: malla 230-400] y se eluyó con hexanos (100 ml) seguido por una mezcla de hexanos/acetato de etilo (95:5, 100 ml). Se combinaron las fracciones de hexano/acetato de etilo y se concentraron al vacío para dar una masa gomosa.

El producto de carbamato de POH exhibió una masa de 120 mg y un rendimiento del 31%. ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 0,9 (m, 2H), 1,4 (m, 2H), 1,7 (m, 7H*), 1,95 (m, 8H*), 2,1 (m, 4H), 2,3 (s, 3H), 4,4 (d, 2H), 4,7 (dd, 2H), 5,6 (br d, 2H), 6,6 (s, 1H), 7,0 (br s, 1H), 7,12 (d, 1H), 7,19 (d, 1H), 7,4 (d, 2H), 7,85 (d, 2H); MS, m/e: 751,8 (M⁺ 3%), 574,3 (100%), 530,5 (45%), 396 (6%).

*Nota: más 2H solapante desde la supuesta impureza descontada en la integración de la RMN.

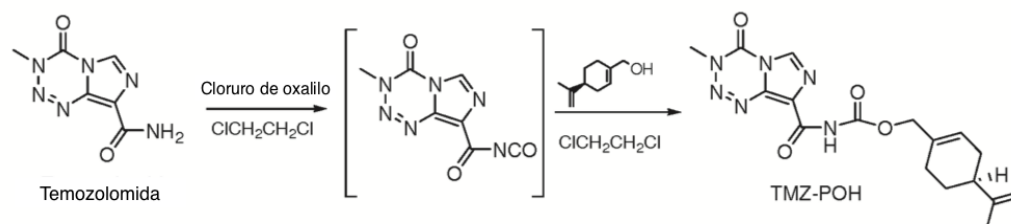
Ejemplo 2: estudios de citotoxicidad *in vitro* del dimetilcelecoxib-bis-(carbamato de POH) (POH-DMC)

Los primeros ensayos de citotoxicidad se realizaron después de que las células se trataran con dimetilcelecoxib (DMC) únicamente. La figura 1 muestra los resultados de los ensayos de citotoxicidad con MTT realizados con las células de glioma maligno humano U87, A172 y U251 con DMC únicamente.

A continuación, las células U87, A172 y U251 se trataron con dimetilcelecoxib-bis(carbamato de POH) (POH-DMC) (p. ej., sintetizado por el método del ejemplo 1) y los ensayos de citotoxicidad con MTT realizados (figura 2). Los resultados sugieren que carbamato de POH y POH-DMC mostraban una citotoxicidad mucho mejor que el DMC en monoterapia.

Ejemplo 3: Síntesis de la temozolomida--carbamato de POH (éster de ácido 3-metil-4-oxo-3,4-dihidroimidazo[5,1-d][1,2,3,5]tetrazina-8-carbonil-carbámico y 4-isopropenilciclohex-1-enilmetilo)

El esquema de reacción es el siguiente:



Se añadió lentamente cloruro de oxalilo (0,13 g, 1,0 mmol) a una mezcla de temozolomida (OChem Incorporation, 0,1 g, 0,5 mmol) en 1,2-dicloroetano (10 ml) durante un margen de 2 minutos, al mismo tiempo que se mantenía la temperatura a 10 °C en N₂. La mezcla de reacción se dejó templar a temperatura ambiente y a continuación se calentó a reflujo durante 3 horas. El exceso de cloruro de oxalilo y 1,2-dicloroetano se retiró por concentración al vacío. El residuo resultante se volvió a disolver en 1,2-dicloroetano (15 ml) y la mezcla de reacción se enfrió a 10 °C en N₂. Se le añadió una solución de alcohol perillílico (0,086 g, 0,56 mmol) en 1,2-dicloroetano (3 ml) durante un margen de 5 minutos. La mezcla de reacción se dejó templar a temperatura ambiente y se agitó durante 14 horas. El 1,2-dicloroetano se concentró al vacío para dar un residuo, que se trituró con hexanos. Se filtró el sólido amarillo resultante y se lavó con hexanos. Peso: 170 mg; rendimiento: 89%. ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 1,4-2,2 (m, 10H), 4,06 (s, 3H), 4,6-4,8 (m, 4H), 5,88 (br s, 1H), 8,42 (s, 1H), 9,31 (br s, 1H); MS, no se observó ningún pico de ion molecular. m/e: 314 (100%), 286,5 (17%), 136 (12%).

Como alternativa, se sintetizó temozolomida-carbamato de POH de acuerdo con el siguiente procedimiento. Se añadió lentamente cloruro de oxalilo (0,13 g, 1,0 mmol) a una mezcla de temozolomida (OChem Incorporation, 0,1 g, 0,5 mmol) en 1,2-dicloroetano (10 ml) durante 2 minutos al mismo tiempo que se mantiene la temperatura a 10 °C en N₂. La mezcla de reacción se dejó templar a temperatura ambiente y a continuación se calentó con reflujo durante 3 horas. El exceso de cloruro de oxalilo y de 1,2-dicloroetano se retiró por concentración al vacío. El residuo resultante se volvió a disolver en 1,2-dicloroetano (15 ml) y la mezcla de reacción se enfrió a 10 °C en N₂. Durante un margen de 5 minutos se le añadió una solución de alcohol perillílico (0,086 g, 0,56 mmol) en 1,2-dicloroetano (3 ml). La mezcla de reacción se dejó templar a temperatura ambiente y se agitó durante 14 horas. El 1,2-dicloroetano se concentró al vacío para dar un residuo, que se purificó mediante una columna pequeña de sílice conectada (dimensiones de la columna: diámetro: 2 cm, altura: 3 cm, sílice: malla 230-400) y se eluyó con una mezcla de hexanos/acetato de etilo (1:1, 100 ml). Se combinaron las fracciones de hexano/acetato de etilo y se concentraron al vacío para dar un residuo sólido blanco que se trituró con heptanos y se filtró para obtener un sólido blanco. Peso: 170 mg; rendimiento: 89%. ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): 1,4-2,2 (m, 10H), 4,06 (s, 3H), 4,6,4,8 (m, 4H), 5,88 (br s, 1H), 8,42 (s, 1H), 9,31 (br s, 1H); MS, no se observó ningún pico de ion molecular, m/e: 314 (100%), 286,5 (17%), 136 (12%).

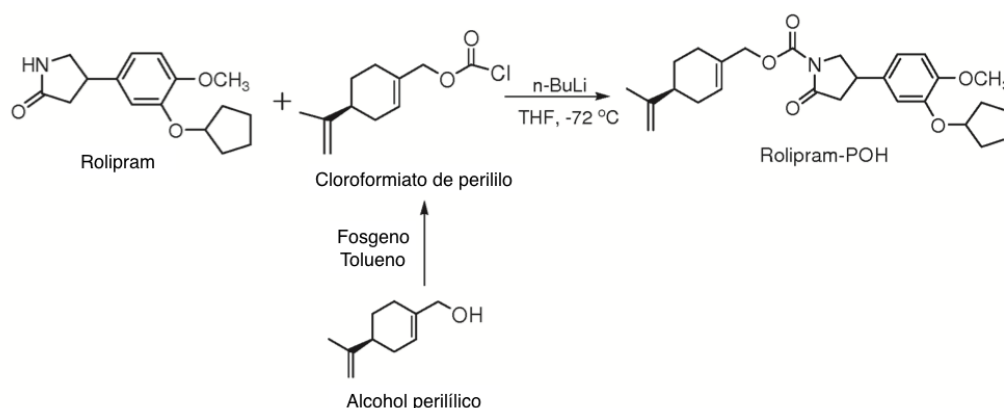
Ejemplo 4: Estudios de citotoxicidad *in vitro* de temozolomida-carbamato de POH (POH-TMZ)

Los primeros ensayos de citotoxicidad se llevaron a cabo después de que las células se trataran solo con temozolomida (TMZ), el alquilante estándar utilizado para el tratamiento de los gliomas malignos. En la figura 3 se muestran los resultados de los ensayos de citotoxicidad con MTT realizados con las células de glioma maligno de humano U87, A172 y U251 con TMZ únicamente. Las concentraciones crecientes de TMZ tenían una citotoxicidad mínima sobre las líneas celulares probadas.

A continuación, las células U87, A172 y U251 de las líneas celulares de glioma resistentes a la TMZ se trataron con temozolomida-carbamato de POH (POH-TMZ) (p. ej., sintetizado por el método en el ejemplo 3). Los resultados del ensayo con MTT (figura 4) mostraban que el carbamato de POH y POH-TMZ presentaban tasas de mortandad sustancialmente mayores que la TMZ sola sobre las diferentes células de glioma humano.

Ejemplo 5: Síntesis del rolipram-carbamato de POH (éster de ácido 4-(3-cicopentiloxi-4-metoxifenil)-2-oxopirrolidina-1-carboxílico y 4-isopropenilciclohex-1-enilmetilo)

El esquema de reacción es el siguiente:



Se añadió fosgeno (20% en tolueno, 13 ml, 26,2 mmol) a una mezcla de alcohol perilílico (2,0 g, 13,1 mmol) y carbonato de potasio (5,4 g, 39,1 mmol) en tolueno seco (30 ml) durante 30 minutos, mientras se mantenía la temperatura entre 10 °C a 15 °C. La mezcla de reacción se dejó templar a temperatura ambiente y se agitó durante 8,0 horas en N₂. La mezcla de reacción se paró con agua (30 ml) y se separó la capa orgánica. La capa orgánica se extrajo con tolueno (20 ml) y la capa orgánica combinada se lavó con agua (50 ml x 2), salmuera (15%, 30 ml) y se secó sobre sulfato de sodio (20 g). La capa orgánica filtrada se concentró al vacío para dar cloroformiato de perillilo como un aceite. Peso: 2,5 g; rendimiento: 89%. ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 1,5 (m, 1H), 1,7 (s, 3H), 1,8 (m, 1H), 2,0 (m, 1H), 2,2 (m, 4H), 4,7 (dd, 4H); 5,87 (m, 1H).

Se añadió butil-litio (2,5 M, 0,18 ml, 0,45 mmol) a una solución de rolipram (GL Synthesis, Inc., 0,1 g, 0,36 mmol) en THF seco a -72 °C durante un margen de 5 minutos en N₂. Después de que la mezcla de reacción se agitara durante 1,0 hora a -72 °C, se le añadió cloroformiato de perillilo (disuelto en 4 ml de THF) durante un margen de 15 minutos, mientras que se mantenía la temperatura a -72 °C. La mezcla de reacción se agitó durante 2,5 horas y se paró con cloruro de amonio saturado (5 ml). La mezcla de reacción se dejó templar a temperatura ambiente y se extrajo con acetato de etilo (2 x 15 ml). La capa orgánica combinada se lavó con agua (15 ml), salmuera (15%, 15 ml) y a continuación se secó sobre sulfato de sodio. La capa orgánica filtrada se concentró para dar un aceite que se purificó por cromatografía en columna [dimensiones de la columna: diámetro: 1,5 cm, altura: 10 cm, sílice: malla 230-400] y se eluyó con una mezcla de acetato de etilo al 8%/hexanos (100 ml) seguida por acetato de etilo al 12%/hexanos (100 ml). Se combinaron las fracciones de acetato de etilo al 12%/hexanos y se concentraron al vacío para producir un sólido gomoso. Peso: 142 mg; rendimiento: 86%. ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 1,5 (m, 1H), 1,6 (m, 2H), 1,7 (s, 3H), 1,9 (m, 6H), 2,2 (m, 5H), 2,7 (m, 1H), 2,9 (m, 1H), 3,5 (m, 1H), 3,7 (m, 1H), 3,8 (s, 3H), 4,2 (m, 1H), 4,7 (m, 6H), 5,8 (br s, 1H), 6,8 (m, 3H); MS, m/e: 452,1 (M⁺ 53%), 274,1 (100%), 206,0 (55%).

Ejemplo 6: Estudios de citotoxicidad *in vitro* de rolipram-carbamato de POH (POH-rolipram)

Para comparar la citotoxicidad del rolipram-carbamato de POH (POH-rolipram) (p. ej., sintetizado mediante el método del ejemplo 5) con el rolipram, una fosfodiesterasa de tipo IV que induce la diferenciación y la apoptosis en las células de glioma, se trataron las células de glioma de humano A172, U87, U251 y LN229 con POH-rolipram o bien con rolipram durante 48 horas. Los resultados del ensayo con MTT se muestran en las figuras 5 a 8. El POH-rolipram ofreció una tasa de mortalidad sustancialmente más alta que el rolipram en monoterapia para cada uno de los diferentes tipos de células de glioma de humano. En la figura 5 se muestra el ensayo con MTT para concentraciones crecientes de rolipram y POH-rolipram en las células A-172. El rolipram en monoterapia muestra una CI₅₀ de aproximadamente 1.000 µM (1 mM). En presencia de POH-rolipram, la CI₅₀ se consigue a una

concentración de tan solo 50 μM . En la figura 6 se muestra el ensayo con MTT para las concentraciones crecientes del rolipram con las células U-87. La CI_{50} no se alcanza a 1.000 μM . Por otra parte, la CI_{50} se consigue a 180 μM con POH-rolipram. En la figura 7 se muestra que la CI_{50} del rolipram en monoterapia para las células U251 se consigue a 170 μM ; la citotoxicidad máxima estable se consigue al 60%. El POH-rolipram alcanza la CI_{50} a 50 μM , con una citotoxicidad de casi el 100% a 100 μM . En la figura 8 se muestra que la CI_{50} del rolipram en monoterapia para las células LN229 no se consigue ni siquiera a 100 μM . Por otra parte, la CI_{50} del POH-rolipram se consigue a 100 μM , con una citotoxicidad de casi el 100% a 10 μM .

Ejemplo 7: Inhibición del crecimiento tumoral *in vivo* mediante los derivados de ácidos grasos con POH

La inhibición del crecimiento tumoral mediante butiril-POH se estudió en un modelo de glioma subcutáneo de ratón atímico. A los ratones se les inyectaron células de glioma U-87 (500.000 células/inyección) y se dejó formar un nódulo palpable durante dos semanas. Una vez formado el nódulo palpable, se trataron los ratones con la aplicación local de diferentes compuestos, tal y como se indica en las figuras 9A y 9B, a través de una Q-tip (1 cm^3 /aplicación al día) durante 8 semanas. En la figura 9A se muestran las imágenes de gliomas U-87 subcutáneos en los ratones atímicos tratados con butiril-POH, (S)-alcohol perilílico purificado con una pureza de más del 98,5% («POH purificado»), POH comprado a Sigma Chemicals, o solución salina tamponada con fosfato (PBS; control negativo). En la figura 9B se muestra el crecimiento tumoral medio con el tiempo (duración total de 60 días). El butiril-POH mostró la mayor inhibición del crecimiento tumoral, seguido por el POH purificado y el POH de Sigma.

Ejemplo 8: Estudios de citotoxicidad *in vitro* de la temozolomida (TMZ) y de temozolomida-carbamato de POH (POH-TMZ) sobre células de glioma sensibles y resistentes a la TMZ.

Los ensayos de formación de colonias se realizaron después de que las células se trataran con TMZ en monoterapia, POH en monoterapia, y el conjugado TMZ-POH. Los ensayos de formación de colonias se realizaron tal y como se describe en Chen TC et al. «Green tea epigallocatechin gallate enhances therapeutic efficacy of temozolomide in orthotopic mouse glioblastoma models» *Cancer Lett.* 28 de marzo de 2011; 302 (2): 100-8. En la figura 10 se muestran los resultados de los ensayos de formación de colonias realizados con las células U251 sensibles a la TMZ (U251) y resistentes a la TMZ (U251TR) con TMZ o TMZ-POH. La TMZ mostró citotoxicidad sobre las células U251 sensibles a la TMZ, pero tenía una citotoxicidad mínima sobre las células U251 resistentes a la TMZ. TMZ-POH mostró citotoxicidad tanto sobre las células U251 sensibles a la TMZ como sobre las resistentes a la TMZ.

En la figura 11 se muestran los resultados de los ensayos de formación de colonias realizados con POH sobre las células U251 sensibles a la TMZ (U251) y resistentes a la TMZ (U251TR). El POH mostró citotoxicidad tanto sobre las células U251 sensibles a la TMZ como sobre las resistentes a la TMZ. POH-TMZ (figura 10) mostró una potencia sustancialmente mayor que el POH en monoterapia (figura 11) en los ensayos de formación de colonias.

Ejemplo 9: Estudios de la citotoxicidad *in vitro* de temozolomida-carbamato de POH (POH-TMZ) sobre las células U251, sobre las células U251TR y sobre los astrocitos normales.

Los ensayos de citotoxicidad con MTT se realizaron después de que las células se trataran con el conjugado TMZ-POH. Los ensayos de citotoxicidad con MTT se realizaron tal y como se describe en Chen TC et al. «Green tea epigallocatechin gallate enhances therapeutic efficacy of temozolomide in orthotopic mouse glioblastoma models». *Cancer Lett.* 28 de marzo de 2011; 302 (2): 100-8. En la figura 12 se muestran los resultados de los ensayos de citotoxicidad con MTT realizados sobre las células sensibles a la TMZ (U251), sobre las células resistentes a la TMZ (U251TR) y sobre los astrocitos normales. TMZ-POH mostró citotoxicidad tanto sobre las células U251 sensibles a la TMZ como sobre las resistentes a la TMZ, pero no en los astrocitos normales.

Ejemplo 10: Estudios de citotoxicidad *in vitro* de temozolomida-carbamato de POH (POH-TMZ) sobre BEC, TuBEC y astrocitos normales

Los ensayos de citotoxicidad con MTT se realizaron después de que las células se trataran con el conjugado TMZ-POH. Los ensayos de citotoxicidad con MTT se realizaron tal y como se describe en Chen TC et al. «Green tea epigallocatechin gallate enhances therapeutic efficacy of temozolomide in orthotopic mouse glioblastoma models». *Cancer Lett.* 28 de marzo de 2011; 302 (2): 100-8. En la figura 13 se muestran los resultados de los ensayos de citotoxicidad con MTT realizados sobre astrocitos normales, células endoteliales del cerebro (BEC, por su nombre en inglés; confluentes y subconfluentes) y células endoteliales tumorales de cerebro (TuBEC, por su nombre en inglés). TMZ-POH no indujo ninguna citotoxicidad significativa sobre los astrocitos normales, las BEC confluentes o las TuBEC. Se mostró una citotoxicidad de leve a moderada en las BEC subconfluentes a concentraciones altas de TMZ-POH.

Ejemplo 11: Estudios de citotoxicidad *in vitro* de la temozolomida (TMZ) y de temozolomida-carbamato de POH (POH-TMZ) en las células madre cancerosas de glioma USC-04.

Los ensayos de citotoxicidad con MTT se llevaron a cabo después de que las células se trataran con la TMZ en monoterapia, el POH en monoterapia o el conjugado TMZ-POH. Los ensayos de citotoxicidad con MTT se realizaron tal y como se describe en Chen TC et al. «Green tea epigallocatechin gallate enhances therapeutic efficacy of

5 temozolomide in orthotopic mouse glioblastoma models». *Cancer Lett.* 28 de marzo de 2011; 302 (2): 100-8. En la figura 14 se muestran los resultados de los ensayos de citotoxicidad con MTT realizados en las células madre cancerosas de glioma USC-04. La TMZ no indujo ninguna citotoxicidad significativa a concentraciones crecientes (0-400 μ M). El TMZ-POH mostró indicios de citotoxicidad con la CI_{50} a 150 μ M. En la figura 15 se muestran los resultados de los ensayos de citotoxicidad con MTT realizados con las células madre cancerosas de glioma USC-04 tratadas con POH. El POH mostró citotoxicidad en las USC-04 al incrementarse la concentración (0-2 mM).

Ejemplo 12: Estudios de citotoxicidad *in vitro* de la temozolomida (TMZ) y de temozolomida-carbamato de POH (POH-TMZ) en las células madre cancerosas de glioma USC-02.

10 Se llevaron a cabo ensayos de citotoxicidad con MTT después de que las células se trataran con TMZ en monoterapia, POH en monoterapia o el conjugado TMZ-POH. Los ensayos de citotoxicidad con MTT se realizaron tal y como se describe en Chen TC et al. «Green tea epigallocatechin gallate enhances therapeutic efficacy of temozolomide in orthotopic mouse glioblastoma models». *Cancer Lett.* 28 de marzo de 2011; 302 (2): 100-8. En la figura 16 se muestran los resultados de los ensayos de citotoxicidad con MTT realizados con las células madre cancerosas de glioma USC-02. La TMZ no indujo una citotoxicidad significativa al incrementarle la concentración (0-400 μ M). El TMZ-POH mostró indicios de citotoxicidad con la CI_{50} a 60 μ M. En la figura 17 se muestran los resultados de los ensayos de citotoxicidad con MTT realizados en las células madre cancerosas de glioma USC-02 tratadas con POH. El POH mostró citotoxicidad con las USC-02 a concentraciones crecientes (0-2 mM).

Ejemplo 13: Estudios *in vitro* de la sobrecarga del RE debida a temozolomida-carbamato de POH (POH-TMZ) en las células de glioma resistentes y sensibles a la TMZ

20 Se realizaron transferencias de tipo Western después de que las células de glioma sensibles y resistentes a la TMZ se trataran con el conjugado TMZ-POH durante 18 horas. En la figura 18 se muestra una transferencia de tipo Western que demuestra que el TMZ-POH induce sobrecarga del RE (SRE) en las células de glioma U251 sensibles y resistentes a la TMZ. La activación de la proteína proapoptósica CHOP se observó a concentraciones de tan solo 60 μ M de TMZ-POH.

25

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición farmacéutica que comprende un carbamato de alcohol perilílico, en donde el carbamato de alcohol perilílico es alcohol perilílico conjugado a un agente quimioterápico seleccionado del grupo que consiste en un alquilante de ADN, un inhibidor de topoisomerasas, un inductor de sobrecarga del retículo endoplasmático, un compuesto de platino, un antimetabolito y rolipram.
2. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el quimioterápico se selecciona del grupo que consiste en dimetilcelecoxib (DMC) y temozolomida (TMZ) y rolipram.
- 10 3. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el quimioterápico es la temozolomida (TMZ).
4. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la composición farmacéutica es idónea para la administración por inhalación, intranasal, oral, intravenosa, subcutánea o intramuscular.
- 15 5. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el carbamato de alcohol perilílico es a) 4-(bis-*N,N*-4-isopropenilciclohex-1-enilmetiloxicarbonil-[5-(2,5-dimetilfenil)-3-trifluorometilpirazol-1-il]bencenosulfonamida, b) éster de ácido 4-(3-ciclopentiloxi-4-metoxifenil)-2-oxopirrolidina-1-carboxílico y 4-isopropenilciclohex-1-enilmetilo, o c) éster de ácido 3-metil-4-oxo-3,4-dihidroimidazo[5,1-d][1,2,3,5]tetrazina-8-carbonil)-carbámico y 4-isopropenilciclohex-1-enilmetilo.
6. Una composición farmacéutica que comprende un carbamato de alcohol perilílico tal y como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para ser usada para el tratamiento de una enfermedad en un mamífero.
- 20 7. La composición farmacéutica para ser usada para el tratamiento de una enfermedad de acuerdo con la reivindicación 6, en donde la enfermedad es cáncer.
8. La composición farmacéutica para ser usada para el tratamiento de un cáncer de acuerdo con la reivindicación 7, en donde el cáncer es un tumor del sistema nervioso central, preferiblemente un glioblastoma.
- 25 9. La composición farmacéutica que comprende un carbamato de alcohol perilílico para ser usada para el tratamiento de una enfermedad de acuerdo con la reivindicación 6, en donde la composición farmacéutica se administrará antes, durante o después de la radiación.
10. Un procedimiento para fabricar un carbamato de alcohol perilílico, que comprende la etapa de hacer reaccionar un primer reactante de cloroformiato de perililo con un segundo reactante seleccionado del grupo que consiste en dimetilcelecoxib (DMC), temozolomida (TMZ) y rolipram.
- 30 11. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 10, en donde el segundo reactante es dimetilcelecoxib, y la reacción se realiza preferiblemente en presencia de acetona y un catalizador de carbonato de potasio.
12. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 10, en donde el segundo reactante es rolipram y la reacción se realiza preferiblemente en presencia de tetrahidrofurano y un catalizador de *n*-butil-litio.
- 35 13. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 10, en donde el cloroformiato de perililo se prepara haciendo reaccionar el alcohol perilílico con fosgeno.

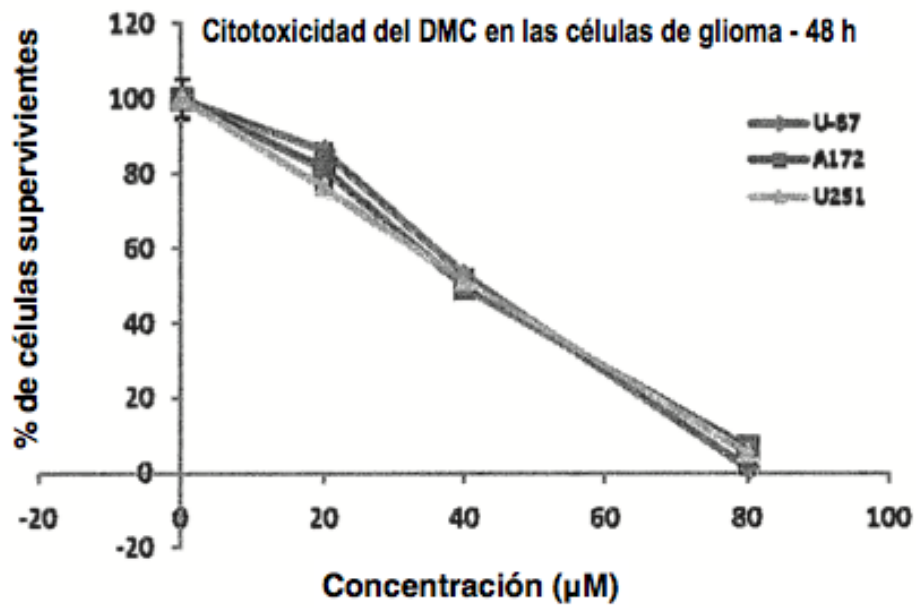


Figura 1

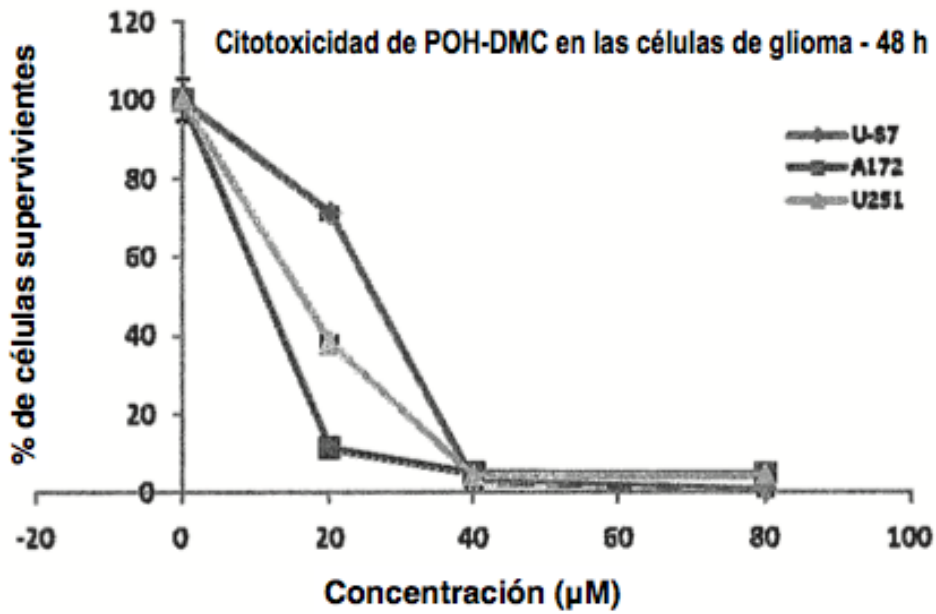


Figura 2

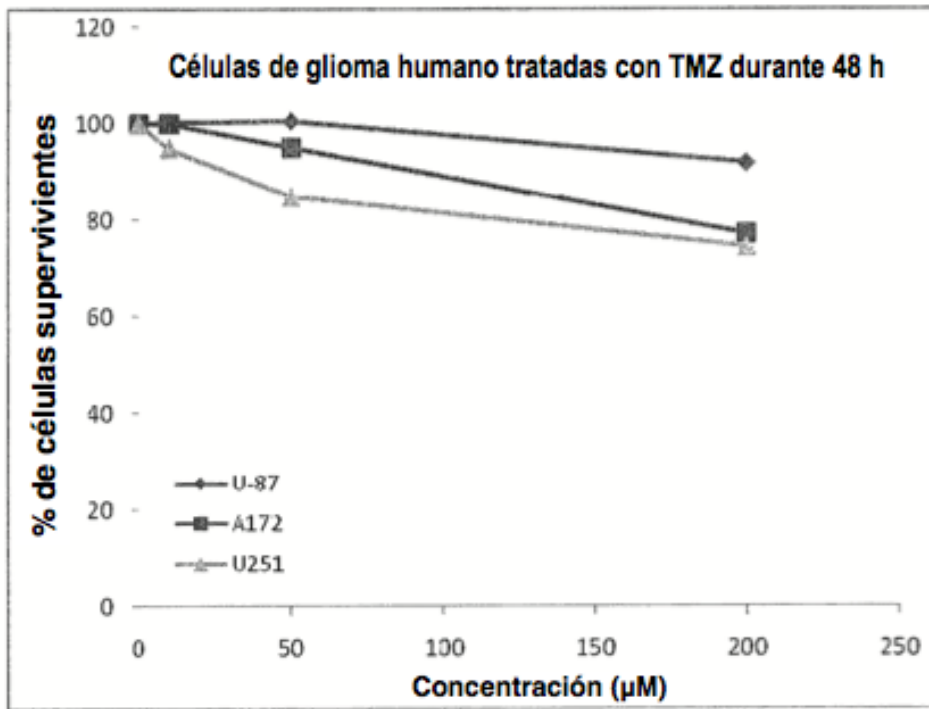


Figura 3

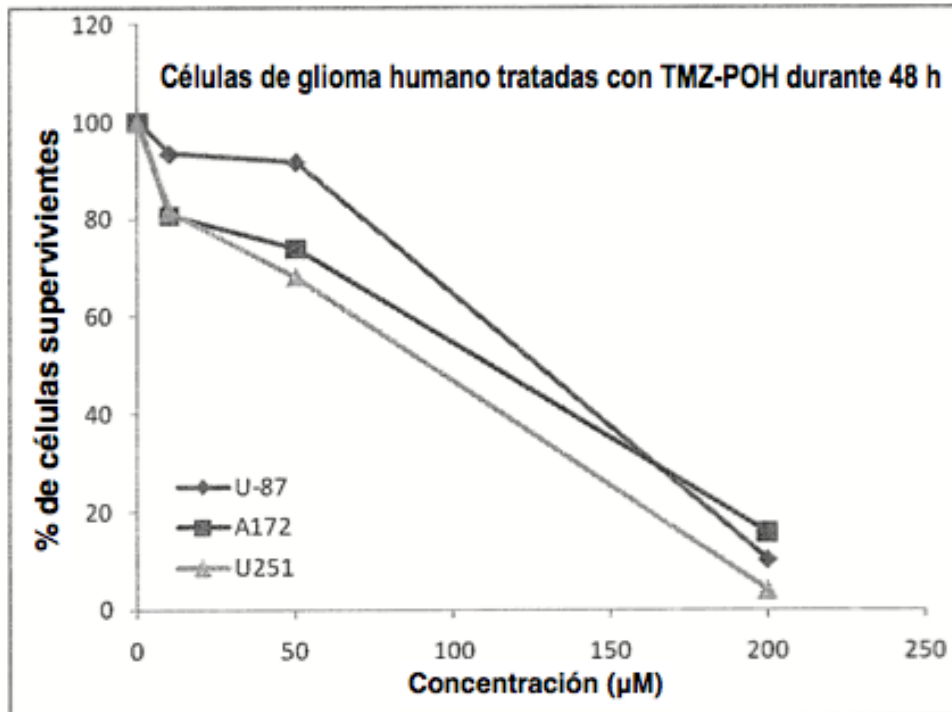


Figura 4

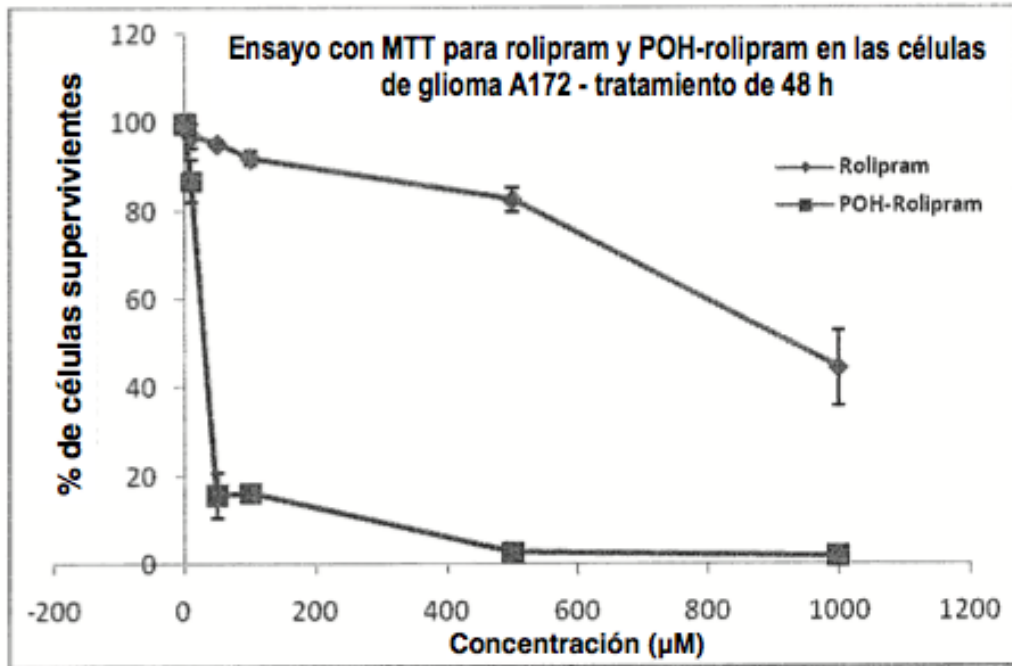


Figura 5

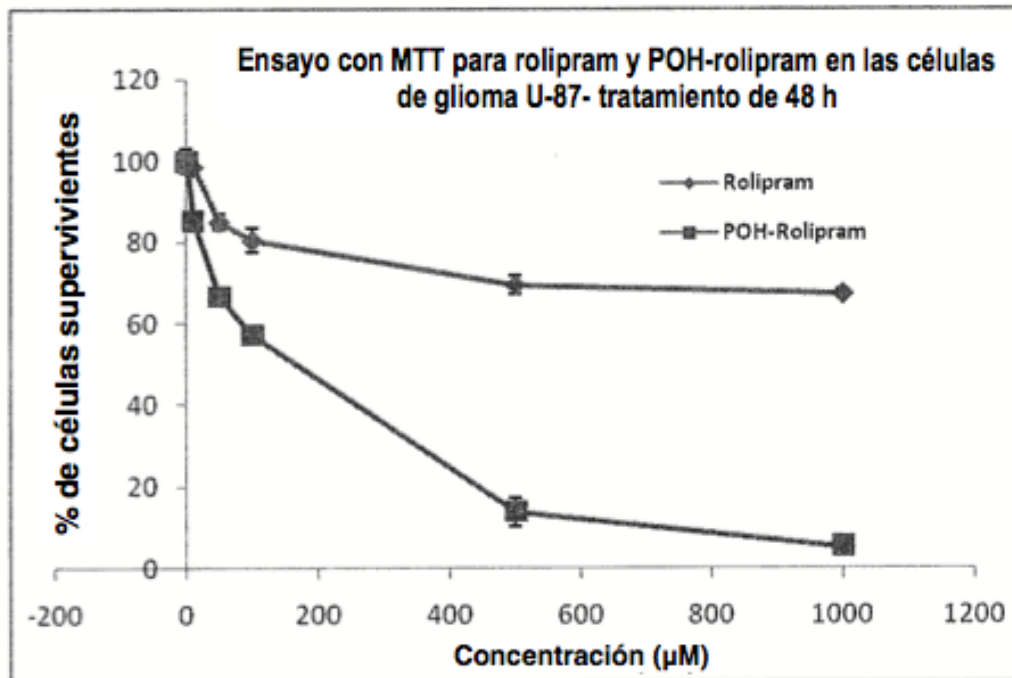


Figura 6

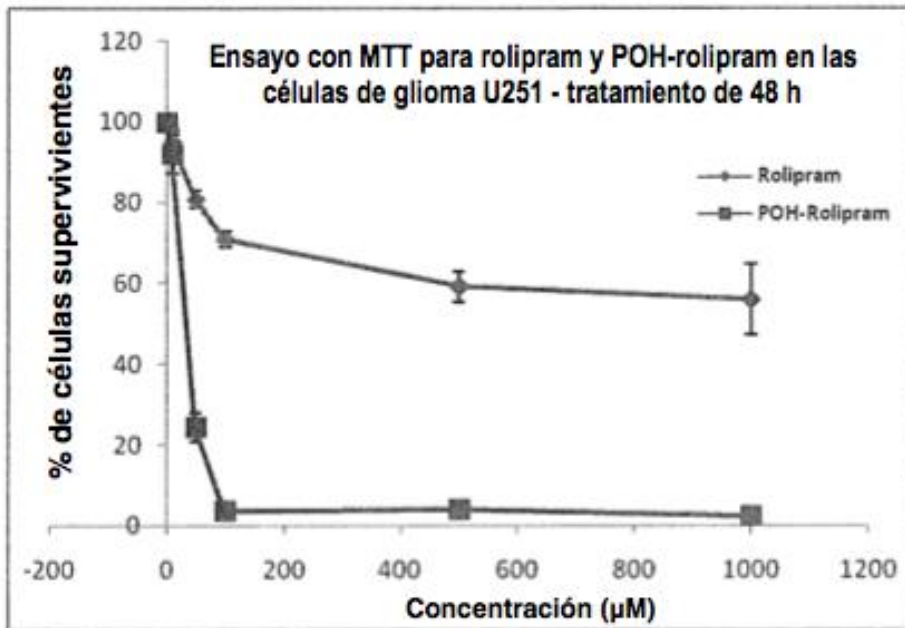


Figura 7

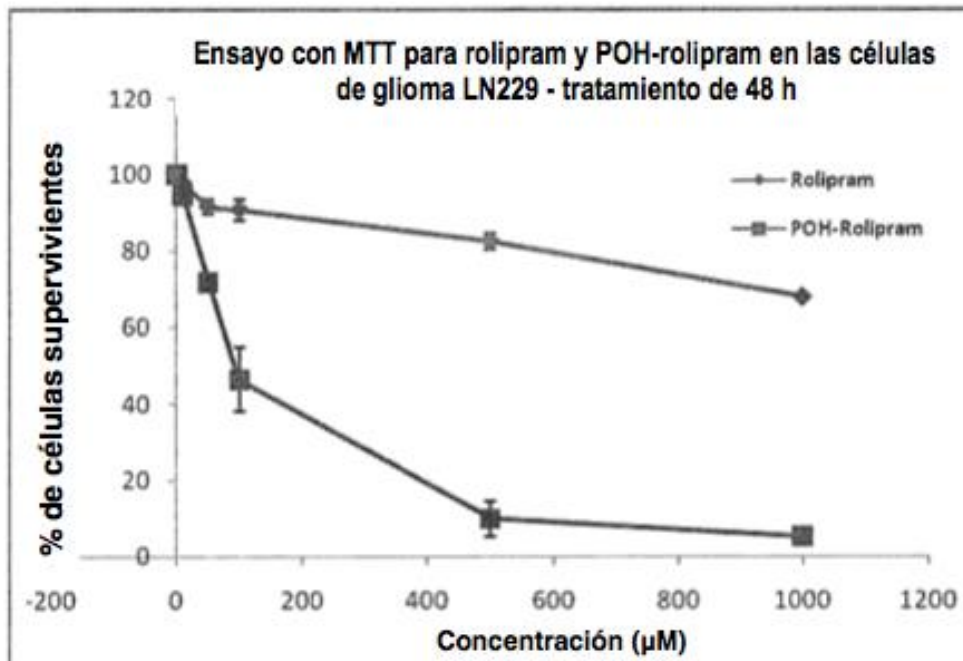


Figura 8

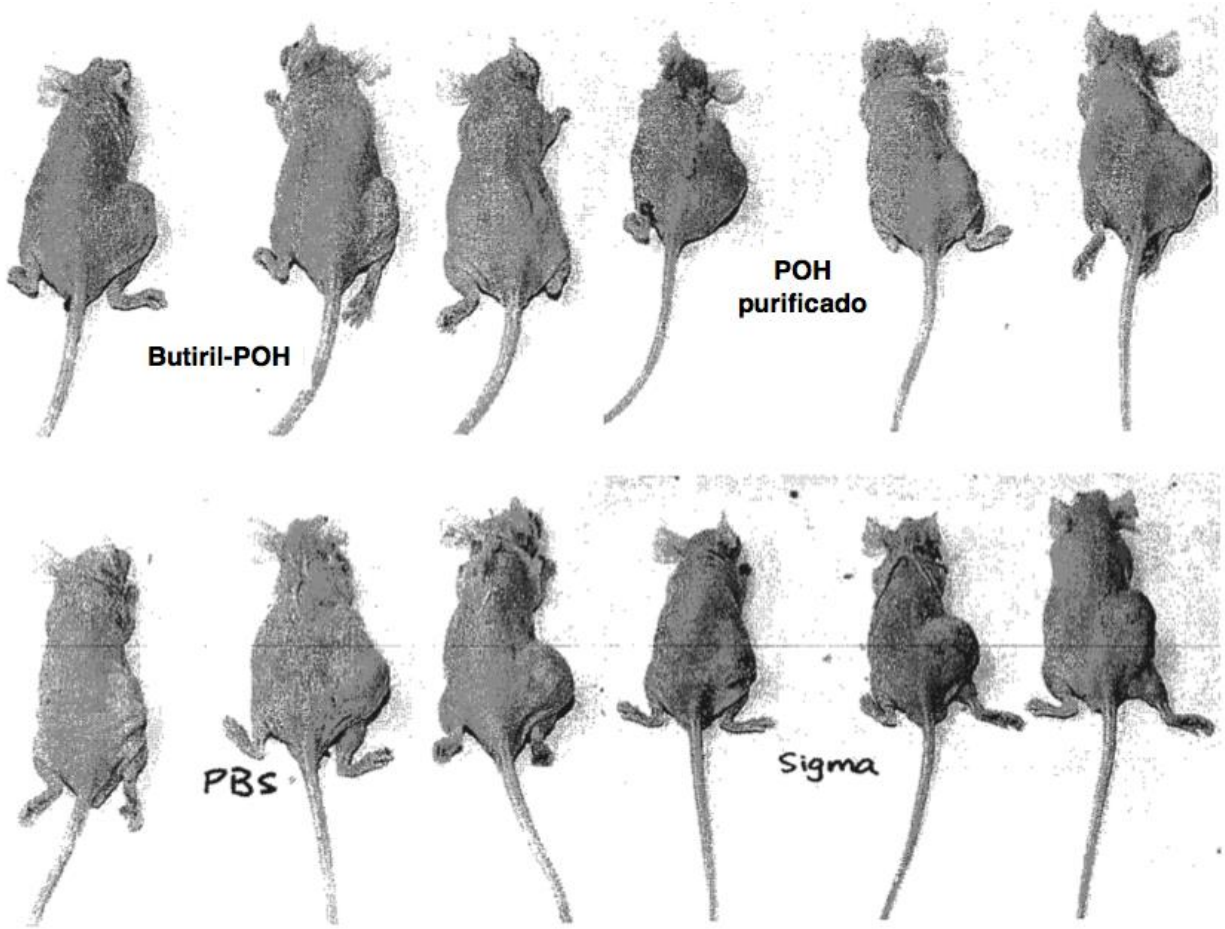


Figura 9A

Crecimiento tumoral medio con el tiempo

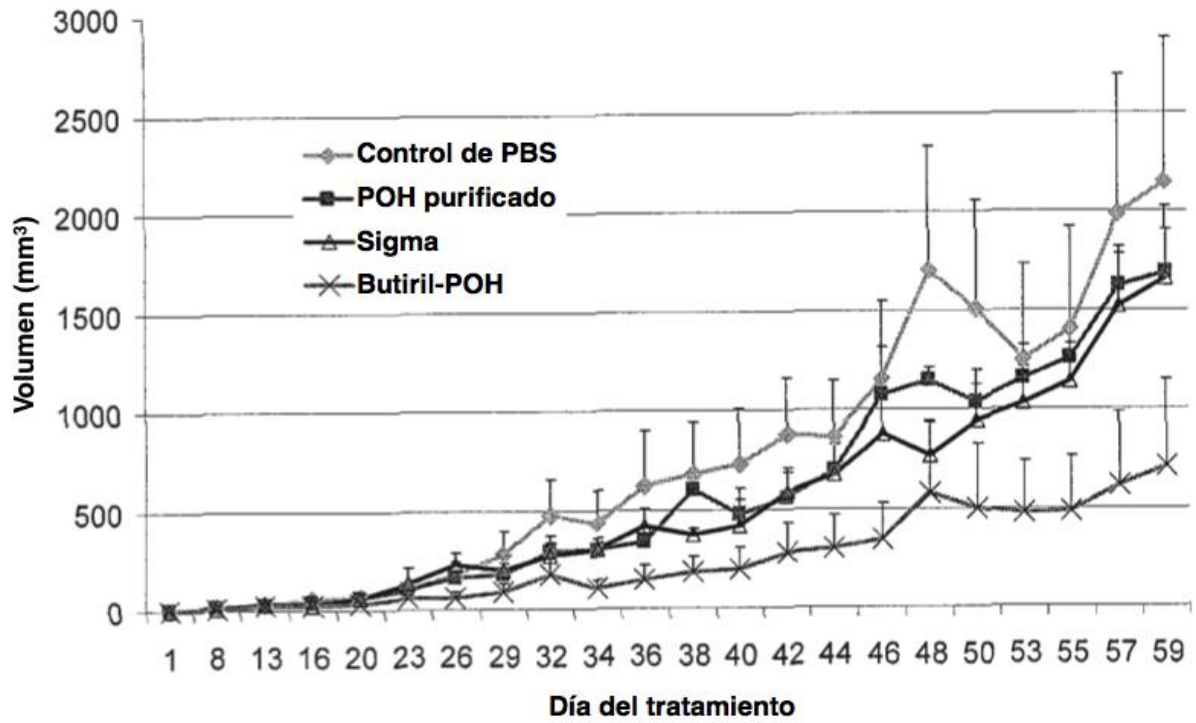


Figura 9B

Ensayo de formación de colonias para TMZ y TMZ-POH en las células de glioma sensibles y resistentes a la TMZ - Tratamiento de 72 h

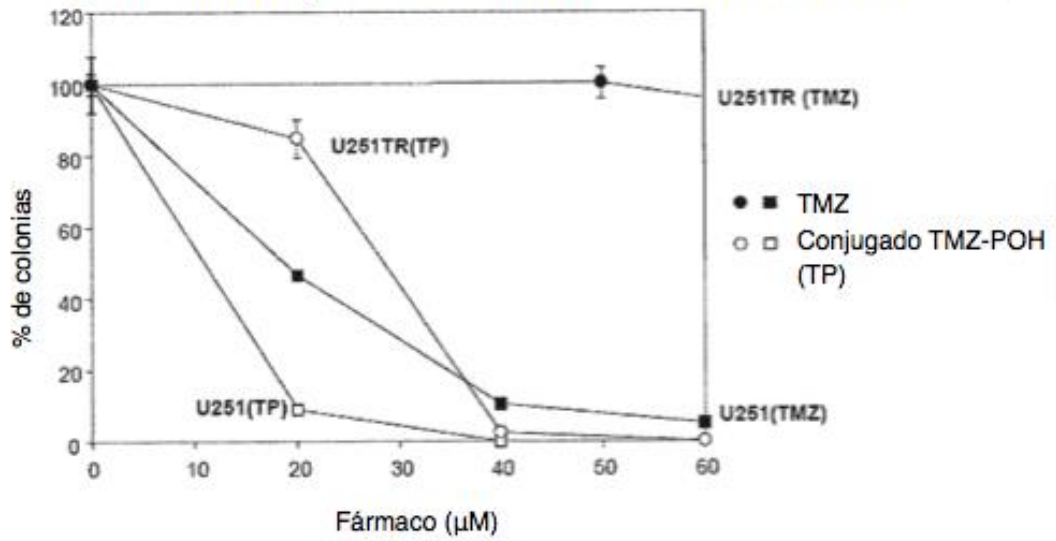


Figura 10

EFC de U251 y U251TR con POH - Tratamiento de 72 h

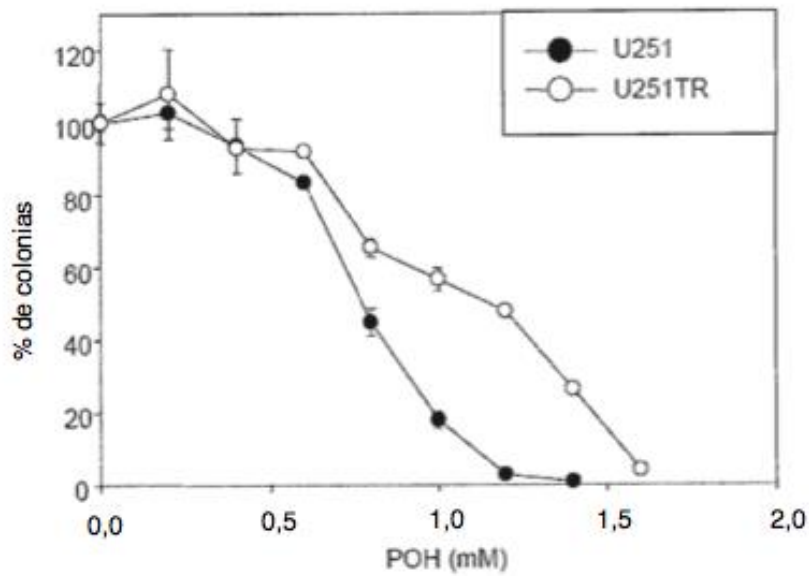


Figura 11

Ensayo con MTT para TMZ-POH sobre U251, U251TR y astrocitos normales - Tratamiento de 72 h

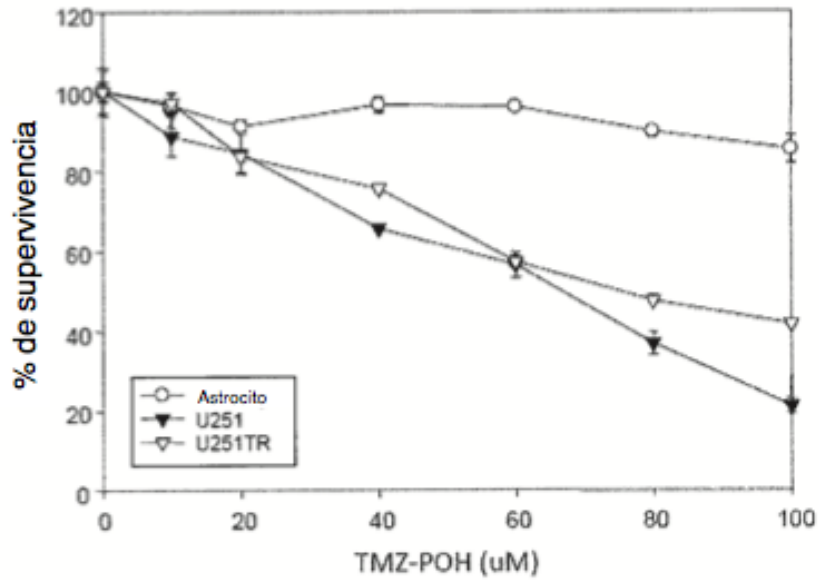


Figura 12

Ensayo con MTT para TMZ-POH sobre BEC, TUBEC y astrocitos - Tratamiento de 72 h

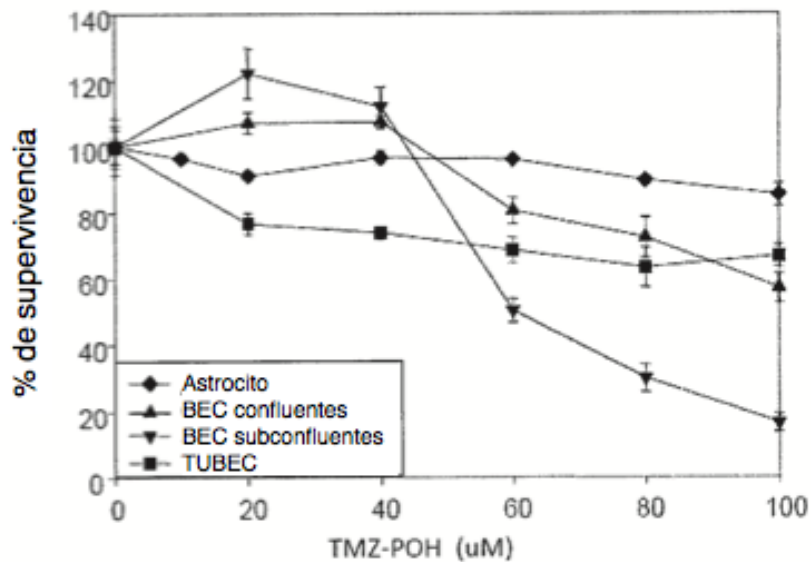


Figura 13

Ensayo con MTT para TMZ-POH en las células madre cancerosas de glioma USC-04 - Tratamiento de 72 h

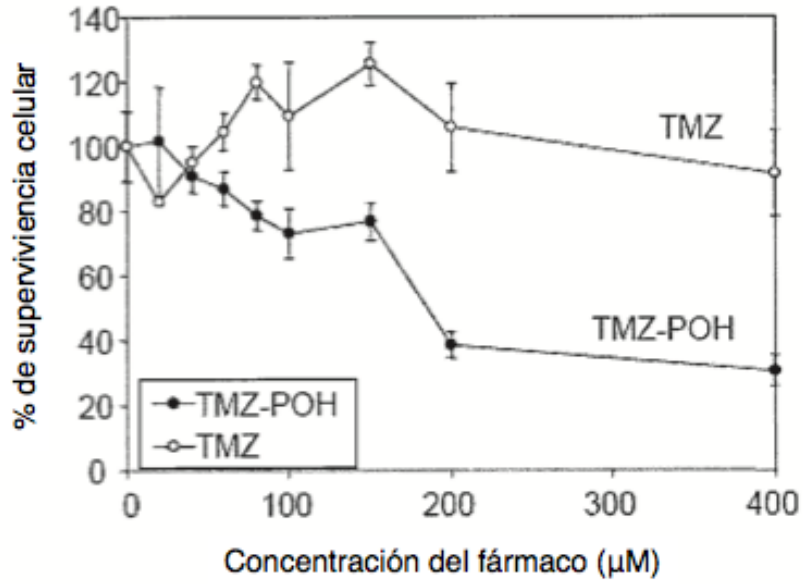


Figura 14

Ensayo con MTT para POH en las células madre cancerosas de glioma USC-04 - Tratamiento de 72 h

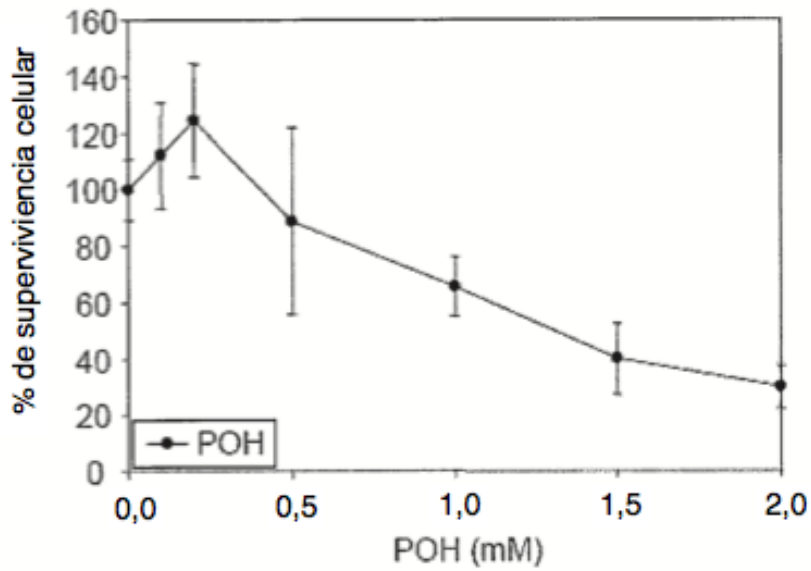


Figura 15

Ensayo con MTT para TMZ-POH en las células madre cancerosas de glioma USC-02 - Tratamiento de 72 h

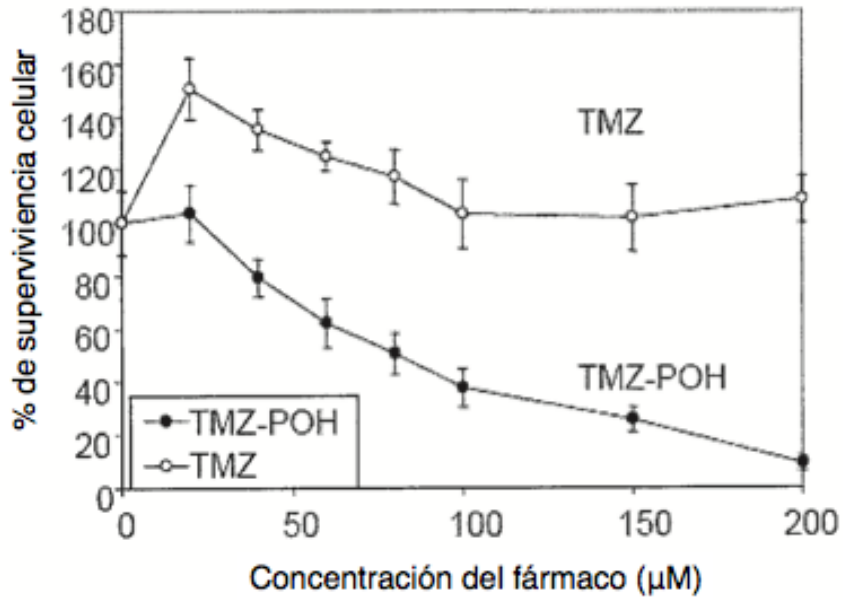


Figura 16

Ensayo con MTT para POH en las células madre cancerosas de glioma USC-02 - Tratamiento de 72 h

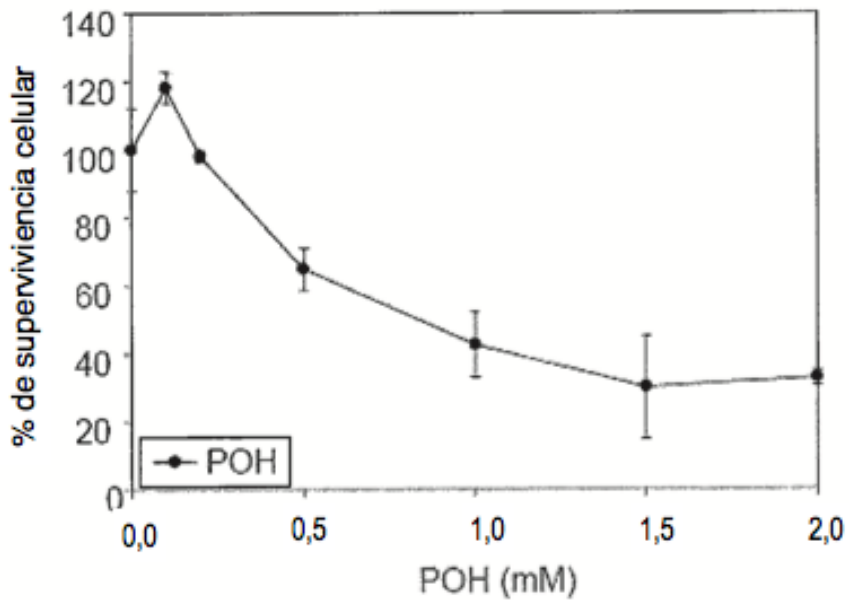


Figura 17

Transfrecia de tipo Western después de tratar con TMZ-POH
las células U251-TMZs y U251-TMZr - Tratamiento de 18 h

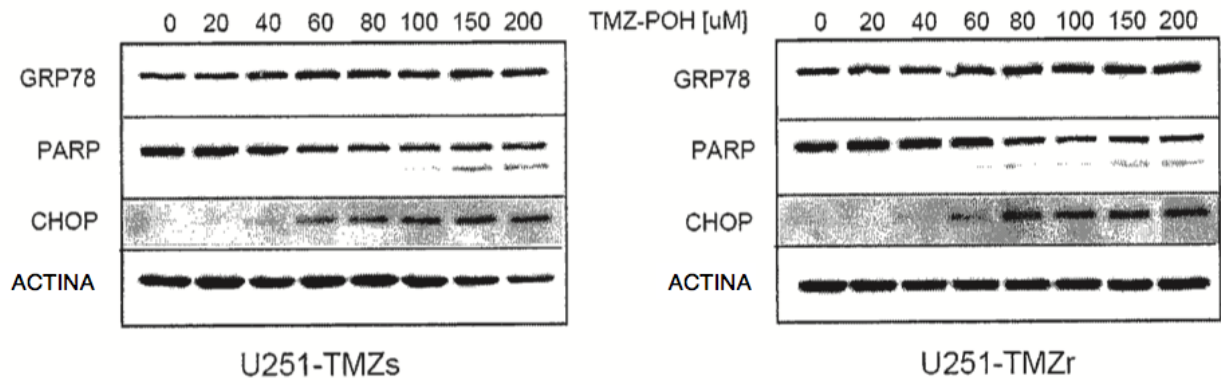


Figura 18