

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 345 241**

21 Número de solicitud: 200900725

51 Int. Cl.:
C07C 59/42 (2006.01)
A61K 31/20 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación: **16.03.2009**

43 Fecha de publicación de la solicitud: **17.09.2010**

43 Fecha de publicación del folleto de la solicitud:
17.09.2010

71 Solicitante/s: **Lipopharma Therapeutics**
Ctra. de Valldemossa, Km. 7,4
ParcBit Edificio 17 - Módulo C-8
07121 Palma de Mallorca, Illes Balears, ES

72 Inventor/es: **Escribá Ruiz, Pablo Vicente;**
Busquets, Xavier;
Terés Jiménez, Silvia;
Barceló Coblijn, Gwendolyn;
Barceló Estarellas, Juana;
Lladó Cañellas, Victoria;
Marcilla Etxenike, Amaia;
Martín, María Laura;
Higuera Urbano, Mónica;
Álvarez Martínez, Rafael y
López, Daniel Horacio

74 Agente: **Illescas Taboada, Manuel**

54 Título: **Uso de 2-hidroxiderivados de ácidos grasos poliinsaturados como medicamentos.**

57 Resumen:

Uso de 2-hidroxiderivados de ácidos grasos poliinsaturados como medicamentos. La presente invención se refiere al uso de 2-hidroxiderivados de ácidos grasos en el tratamiento de enfermedades cuya etiología común está basada en alteraciones (de cualquier origen) de los lípidos de la membrana celular como, por ejemplo, alteraciones en el nivel, en la composición o en la estructura de dichos lípidos. Asimismo, para enfermedades en las que la regulación de la composición y estructura lipídica de membrana induzca la reversión del estado patológico.

ES 2 345 241 A1

DESCRIPCIÓN

Uso de 2-hidroxiderivados de ácidos grasos poliinsaturados como medicamentos.

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere al uso de 2-hidroxiderivados de ácidos grasos como medicamentos, preferentemente en el tratamiento de enfermedades cuya etiología común está basada en alteraciones (de cualquier origen) de los lípidos de la membrana celular como, por ejemplo: alteraciones en el nivel, en la composición o en la estructura de dichos lípidos, así mismo en el tratamiento de enfermedades en las que la regulación de la composición y estructura lipídica de membrana induzca la reversión del estado patológico.

Así, la presente invención, debido a su amplio espectro de aplicación, es susceptible de ser englobada en el campo de la medicina y la farmacia de forma general.

15 **Estado de la técnica**

Las membranas celulares son estructuras que definen la entidad de las células y de los orgánulos en ellas contenidas. En las membranas o en sus proximidades ocurren la mayoría de los procesos biológicos. Los lípidos no sólo tienen un papel estructural, sino que regulan la actividad de importantes procesos. Es más, la regulación de la composición lipídica de la membrana también influye en la localización o la función de importantes proteínas implicadas en el control de la fisiología celular, como las proteínas G o la PKC (Escribá *et al.*, 1995; 1997; Yang *et al.*; 2005; Martínez *et al.*, 2005). Estos y otros estudios demuestran la importancia que tienen los lípidos en el control de importantes funciones celulares. De hecho, numerosas enfermedades en humanos tales como (entre otras): el cáncer, enfermedades cardiovasculares, procesos neurodegenerativos, obesidad, desórdenes metabólicos, inflamación, enfermedades infecciosas y enfermedades autoinmunes, se han relacionado con alteraciones en los niveles o en la composición de los lípidos presentes en las membranas biológicas, evidenciándose, además, los efectos beneficiosos que presentan los tratamientos con otros ácidos grasos distintos a los de la presente invención y que regulan la composición y estructura de los lípidos de membrana, pudiendo ser empleados para revertir dichas enfermedades (Escribá, 2006).

Los lípidos que se ingieren en la dieta regulan la composición lipídica de las membranas celulares (Alemany y cols., 2007). Asimismo, diferentes situaciones fisiológicas y patológicas pueden cambiar los lípidos presentes en las membranas celulares (Buda y cols., 1994; Escribá, 2006). Los cambios en la composición lipídica de las membranas influyen sobre la señalización celular, pudiendo dar lugar al desarrollo de enfermedades o bien a revertirlas (Escribá, 2006).

Diferentes estudios realizados durante los últimos años indican que los lípidos de membrana desempeñan un papel mucho más importante del que se les había asignado hasta ahora (Escribá *et al.*, 2008). Un ejemplo de dicha importancia lo constituyen los peces que viven en ríos con temperatura variable, cuyos lípidos experimentan importantes cambios (cambios en abundancia y tipos de lípidos de membrana) cuando la temperatura baja desde 20°C (verano) hasta 4°C (invierno) (Buda *et al.* 1994). Estos cambios permiten el mantenimiento de sus funciones en tipos celulares de muy diversa naturaleza. Por ello, se podría decir, que los lípidos de membrana pueden determinar el buen o mal funcionamiento de múltiples mecanismos de señalización celular. Dado que un organismo enfermo lo es porque sus células están enfermas, las alteraciones en los lípidos de membrana pueden dar lugar a la aparición de enfermedades. De forma análoga, intervenciones terapéuticas, nutracéuticas o cosméticas enfocadas a regular los niveles de lípidos de membrana pueden prevenir y revertir (curar) procesos patológicos. Además, numerosos trabajos indican que el consumo de grasas saturadas y *trans*-monoinsaturadas está relacionado con el deterioro de la salud. Enfermedades vasculares y tumorales, entre otras, se han relacionado directamente con este tipo de lípidos (Stender y Dyerberg, 2004). El deterioro de un organismo se manifiesta en la aparición de éstos y otros tipos de enfermedades.

Las membranas celulares constituyen la barrera selectiva a través de la cual una célula intercambia metabolitos e información con otras células y con el medio extracelular que la rodea. Sin embargo, las membranas desempeñan otras funciones muy importantes a nivel celular. Por una parte, sirven de soporte a proteínas implicadas en la recepción o emisión de mensajes que controlan importantes parámetros orgánicos. Dichos mensajes, mediados por numerosas hormonas, neurotransmisores, citoquinas, factores de crecimiento, etc., activan proteínas de membrana, que propagan la señal recibida al interior celular a través de otras proteínas, algunas de las cuales también se ubican en la membrana. Dado que (1) estos sistemas funcionan como cascadas de amplificación y (2) que los lípidos de membrana pueden regular la localización y función de dichas proteínas, la composición lipídica de las membranas puede tener un impacto importante en la funcionalidad celular. En concreto, la interacción de ciertas proteínas (denominadas periféricas, como las proteínas G, la proteína kinasa C, la proteína Ras, etc.) con la membrana celular depende de la composición lipídica de la misma (Vögler *et al.*, 2004; Vögler *et al.*, 2008). Por otro lado, la composición lipídica de las membranas celulares está influenciada por el tipo y la abundancia de los lípidos ingeridos (Escribá *et al.*, 2003). De esto se deduce, que la ingesta de lípidos puede regular la composición lipídica de las membranas, que a su vez puede controlar la interacción (y por ello la actividad) de importantes proteínas de señalización celular (Yang *et al.*, 2005).

El hecho de que los lípidos de membrana puedan controlar la señalización celular, supone que también puedan regular el estado fisiológico de las células. De hecho, se han descrito efectos tanto negativos, como positivos de los lípidos sobre la salud (Escribá *et al.*, 2006; Escribá *et al.*, 2008). Estudios preliminares han demostrado que el ácido

2-hidroxioléico, que es un ácido graso monoinsaturado, es capaz de revertir ciertos procesos patológicos, como el sobrepeso, la hipertensión o el cáncer (Alemany *et al.*, 2004; Martínez *et al.*, 2005; Vögler *et al.*, 2008).

5 Las enfermedades cardiovasculares están frecuentemente asociadas a la hiperproliferación de las células que constituyen los tejidos cardíaco y vascular. Esta hiperproliferación de células cardiovasculares da lugar a depósitos en el lumen interno de los vasos y cavidades del sistema cardiovascular que se traducen en una amplia gama de enfermedades, como la hipertensión, la aterosclerosis, la isquemia, infartos, etc. (Schwartz *et al.*, 1986). De hecho, se ha sugerido el desarrollo de medicamentos que eviten la proliferación celular para la prevención y tratamiento de enfermedades cardiovasculares (Jacksony Schwartz, 1992).

10 La obesidad se produce por una alteración entre el balance de ingesta y gasto energético que se debe, en parte, a alteraciones en los mecanismos que regulan estos procesos. Por otro lado, esta patología se caracteriza por la hiperplasia (aumento en el número de células) o hipertrofia (aumento en el tamaño) de las células del tejido adiposo, los adipocitos. Numerosos estudios demuestran que los ácidos grasos, bien libres o como parte de otras moléculas, pueden influir sobre una serie de parámetros relacionados con la homeostasis energética, como la masa de grasa corporal, el metabolismo lipídico, la termogénesis o la ingesta, entre otros (Vögler *et al.*, 2008). En este sentido, la modificación de ácidos grasos podría ser una estrategia para regular la homeostasis energética y, por ello, el peso corporal.

20 Los procesos neurodegenerativos dan lugar a una serie de enfermedades con diferentes manifestaciones, pero con la característica común de estar ocasionadas por degeneración de las células del sistema nervioso central y/o periférico. Algunos de estos procesos neurodegenerativos suponen una merma importante de la capacidad cognitiva de los pacientes, como la enfermedad de Alzheimer o la demencia senil. Otras, dan lugar a alteraciones de tipo motor, como la enfermedad de Parkinson o diferentes tipos de esclerosis. Finalmente, ciertas enfermedades neurodegenerativas pueden derivar en procesos en los que se desarrolla ceguera, problemas de audición, desorientación, alteraciones en el estado de ánimo, etc.

30 Un ejemplo de desorden neurodegenerativo bien caracterizado lo constituye la enfermedad de Alzheimer, en la que se ha observado la formación de placas seniles, formadas por restos de proteínas de membrana (p.ej., el péptido β -amiloide) procesadas erróneamente, que se acumulan en el exterior de las células, y de ovillos de neurofilamentos de proteína Tau, que aparecen en el interior celular. Este proceso se ha asociado a alteraciones en el metabolismo del colesterol y la consecuente alteración de los niveles de colesterol en las membranas (Sagin y Sozmen, 2008). De hecho, el desarrollo de esta enfermedad está relacionado con otras enfermedades en las que se han descrito alteraciones del metabolismo lipídico, y más concretamente del colesterol, como las de tipo cardiovascular.

35 Por otro lado, la esclerosis y otros procesos neurodegenerativos se relacionan con la “desmielinización”, cuyo resultado neto es la pérdida de lípidos en la cubierta de los axones neuronales, con las consiguientes alteraciones en el proceso de propagación de señales eléctricas que ello supone. La mielina es una capa lipídica que rodea los axones de muchas neuronas y que está formada por una sucesión de repliegues en espiral de la membrana plasmática de células de la glia (células de Schwann). Por todo ello, está claro que los lípidos juegan un papel importantísimo en el desarrollo de enfermedades neurodegenerativas. Es más, se ha comprobado que los AGPI naturales no modificados tienen un moderado efecto preventivo sobre el desarrollo de procesos neurodegenerativos (Lañe y Farlow, 2005).

40 Las enfermedades metabólicas forman un conjunto de patologías caracterizadas por la acumulación o el déficit de ciertas moléculas. Un ejemplo típico lo constituye la acumulación de colesterol y/o triglicéridos por encima de los niveles normales. El aumento en los niveles de colesterol y/o triglicéridos, tanto a nivel sistémico (p.ej., aumento en los niveles plasmáticos) como a nivel celular (p.ej., en las membranas celulares) se asocian a alteraciones en la señalización celular que desembocan en disfunciones a varios niveles, y que se deben normalmente a errores en la actividad de ciertos enzimas o el control de dichas proteínas. Entre las metabolopatías más importantes se encuentran la hipercolesterolemia (elevados niveles de colesterol) y la hipertrigliceridemia (elevados niveles de triglicéridos). Estas enfermedades tienen tasas de incidencia, de morbilidad y mortalidad elevadas, por lo que su tratamiento es una necesidad de primer orden.

55 El papel protector de ciertos ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) sobre ciertas enfermedades ya ha sido descrito por diferentes investigadores. De esta forma, los AGPI ralentizan el desarrollo de cáncer y tienen efectos positivos contra el desarrollo de enfermedades cardiovasculares, patologías neurodegenerativas, metabólicas, obesidad, inflamación, etc. (Trombetta *et al.*, 2007; Jung *et al.*, 2008; Florent *et al.*, 2006). Sin embargo, la actividad farmacológica de estos compuestos es muy limitada debido a su rápida metabolización y escaso tiempo de vida media en la sangre. Por lo tanto se antoja necesario el desarrollo de AGPI con una metabolización más lenta, consecuencia de la cual su presencia en la membrana celular se vea aumentada, en comparación a los AGPI hasta ahora utilizados, y que faciliten la interacción de proteínas periféricas de señalización celular.

65 Dada la sabida relación existente entre las alteraciones tanto estructurales como funcionales de los lípidos localizados en la membrana celular con el desencadenamiento de varias enfermedades de diversa tipología, pero unitariamente relacionadas por dicha etiología, como por ejemplo: cáncer, enfermedades cardiovasculares, obesidad, enfermedades neurodegenerativas y metabólicas; la presente invención se focaliza en el uso de nuevos ácidos grasos poliinsaturados capaces de solventar los problemas técnicos asociados a los ácidos grasos arriba mencionados y, por lo tanto, útiles para tratar eficazmente dichas enfermedades.

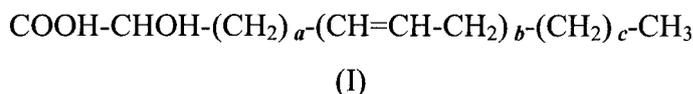
Descripción de la invención**Breve descripción de la invención**

5 La presente invención se focaliza en derivados 2-hidroxilados de ácidos grasos poliinsaturados (en lo sucesivo: OH-AGPI) para ser usados en el tratamiento de enfermedades cuya etiología común se relaciona con alteraciones
 10 estructurales y/o funcionales de los lípidos de la membrana celular, particularmente seleccionadas entre: cáncer, enfermedades vasculares, enfermedades neurodegenerativas y enfermedades metabólicas, obesidad y sobrepeso. Los OH-AGPI tienen menor tasa de metabolización que los ácidos grasos poliinsaturados naturales (en lo sucesivo: AGPI),
 15 ya que la presencia de un hidroxilo (-OH) en el carbono 2 bloquea su degradación a través de la β -oxidación. Esto hace que sus niveles en membrana sean superiores a lo normal, facilitando la interacción de proteínas periféricas de señalización celular. Este efecto se debe a que reducen el empaquetado de la superficie de la membrana, permitiendo el anclaje de proteínas periféricas. Así, los OH-AGPI que constituyen el objeto de la presente invención tienen una actividad mucho mayor que los AGPI, mostrando efectos farmacológicos significativamente superiores para el
 20 tratamiento de las enfermedades indicadas.

Como se ha mencionado anteriormente, las enfermedades tratadas con los OH-AGPI de la invención comparten etiología la cual se relaciona con alteraciones estructurales y/o funcionales (o de cualquier otro origen) de los lípidos de la membrana celular. A modo de ejemplo se exponen las siguientes enfermedades:

- El cáncer: cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer de páncreas, leucemia cáncer de cérvix, cáncer de colon, cáncer de cerebro, cáncer de pulmón, etc.
- Enfermedades vasculares: arterioesclerosis, isquemias, cardiomiopatías, angiogénesis, hiperplasia cardiaca, hipertensión, etc.
- Obesidad y sobrepeso.
- Enfermedades metabólicas: hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia, diabetes, etc.
- Enfermedades neurodegenerativas: enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, esclerosis, etc.

Los OH-AGPI de la presente invención se caracterizan por la siguiente Fórmula (I):



donde a , b y c pueden tener valores independientes entre 0 y 7.

La administración de los ácidos grasos de la invención puede llevarse a cabo por cualquier vía como, por ejemplo: vía enteral, vía oral, vía rectal, vía tópica, vía inhalatoria, vía inyección intravenosa, vía inyección intramuscular o vía inyección subcutánea. Además la administración puede realizarse bien según la fórmula arriba indicada o bien en cualquier tipo de derivado farmacéuticamente aceptable de la misma, como por ejemplo: ésteres, éteres, alquilos, fosfatos, sulfatos, etilos, metilos, propilos, etc.

Además los ácidos grasos de la invención pueden administrarse de forma independiente o formulados en composiciones farmacéuticas o nutraceuticas donde se combinan con excipientes como por ejemplo: ligantes, rellenos, desintegradores, lubricantes, recubridores, edulcorantes, saborizantes, colorantes, transportadores, etc. y combinaciones de los mismos. Asimismo, los ácidos grasos de la invención pueden formar parte de composiciones farmacéuticas o nutraceuticas, en combinación con otros principios activos.

A efectos de la presente invención se define el término “nutracéutico” como un compuesto que se ingiere de forma periódica durante la alimentación y que sirve para prevenir enfermedades, en este caso, cuya etiología está unida a alteraciones de los lípidos de la membrana celular.

A los efectos de la presente invención se entiende por “cantidad terapéuticamente eficaz” aquella que revierte la enfermedad o la previene sin mostrar efectos secundarios adversos.

Breve descripción de las figuras

Figura 1. Efecto de los compuestos de la Tabla 1 sobre el crecimiento de células tumorales. Se representa en el eje de ordenadas las células viables (% del control) en función del ácido graso utilizado (eje de abscisas). Las células de cáncer de pulmón humano (A549) se cultivaron en medio RPMI-1640 con 10% de suero durante 48 horas en ausencia (control) o presencia de 250 μ M de los ácidos grasos listados anteriormente. La gráfica representa el número de células

viables (media y error estándar de la media de 3 experimentos). La línea punteada representa la eliminación total de células (0% de viabilidad).

Figura 2. Efecto de los AGPI y OH-AGPI sobre la proliferación de células vasculares. Se representa en el eje de ordenadas las células (% del control) en función del ácido graso utilizado (eje de abscisas). Las células se incubaron en medio completo (control, C), medio incompleto sin suplemento (CSS) o de medio completo en presencia de AGPIs (182, 183A, 183G, 204, 205 y 226) o de OH-AGPIs (182A1, 183A1, 183A2, 204A1, 205A1 y 226A1). La reducción de la proliferación, pero aún por encima de los valores de CSS, indica que estas moléculas tienen capacidad para regular la proliferación anormal de células cardiovasculares sin llegar a ser tóxicas.

Figura 3. Proliferación de adipocitos en cultivo en ausencia (control, C) o presencia de diferentes AGPI y OH-AGPI. Se representa en el eje de ordenadas las células (% del control) en función del ácido graso utilizado (eje de abscisas). Como control de no proliferación se empleó un medio deficiente en suero (medio con suero bajo, MSB).

Figura 4. Muerte de células P19 en cultivo en ausencia de factores externos (control, C: 0% de muerte neuronal) y en presencia de NMDA (100% de muerte neuronal). Se representa en el eje de ordenadas la muerte neuronal (% del control) en función del ácido graso utilizado (eje de abscisas). La presencia de AGPI indujo reducciones modestas en la supervivencia de células P19 en presencia de NMDA. Los OH-AGPI indujeron reducciones importantes en los valores de supervivencia celular, llegando a superar reducciones en más del 200% en el caso de 226A1.

Figura 5. Niveles de colesterol (A) y triglicéridos totales (B) en células 3T3-L1. Se representa en el eje de ordenadas el colesterol (A) o los triglicéridos (B) (% lípidos totales) en función del ácido graso utilizado (eje de abscisas). Los valores mostrados son medias y error estándar de la media de colesterol y triglicéridos con respecto a los lípidos totales medidos en membranas celulares mediante métodos espectrofotométricos (colesterol) o cromatografía en capa fina seguida de cromatografía de gases (triglicéridos). Los gráficos muestran los valores cuantificados en células cultivadas en ausencia (Control) o presencia de los AGPI u OH-AGPI listados arriba.

Figura 6

A. Relación entre la estructura de membrana y los efectos celulares inducidos por los OH-AGPI. Se representa en el eje de ordenadas los efectos celulares (% de control) frente a la Temperatura de Transición H_{II} (eje de abscisas). Se determinó la media del efecto producido por cada uno de los OH-AGPI (promedio del efecto de cada lípido en todos los modelos de enfermedad estudiados y en función del número de dobles enlaces) y se representó frente a la temperatura de transición. La reducción en la temperatura de transición H_{II} indica una mayor inducción de discontinuidades de membrana, lo que genera lugares de anclaje para proteínas periféricas en la membrana y da lugar a una mejor regulación de la señalización celular y, por lo tanto, una mayor eficacia para el control de ciertas enfermedades.

B. Relación entre la eficacia terapéutica de los AGPI (círculos vacíos) y OH-AGPI (círculos rellenos). Cada punto corresponde al promedio del efecto observado para todas las enfermedades estudiadas (ordenadas: cambio respecto al control %) en función del número de dobles enlaces que presenta cada molécula (abscisas). En ambos casos las correlaciones fueron significativas ($P < 0,05$). Se observó que el efecto terapéutico depende del número de dobles enlaces que tiene la molécula, que a su vez está relacionado con la capacidad de regular la estructura de membrana. En este sentido, la presencia de un radical OH, presente en los OH-AGPI, pero no en los AGPI, es indispensable para potenciar el efecto terapéutico de estas moléculas.

Estos resultados indican que los efectos de los lípidos recogidos en esta invención tienen una base común. Estas correlaciones (con valores de r^2 de 0,77 y 0,9 para los OH-AGPI y $P < 0,05$ en ambos casos) indican claramente que la estructura de los lípidos utilizados es la base de su efecto y que el mismo se produce a través de la regulación de la estructura de membrana, originada por la relación estructura-función de cada lípido.

Descripción detallada de la invención

El amplio espectro de aplicación terapéutica que ofrecen los OH-AGPI de la presente invención permite asumir de forma generalizada que confieren a las membranas unas propiedades estructurales específicas que permiten la correcta actividad de los procesos llevados a cabo en y por dichas membranas. Dicho de otro modo, los ácidos grasos de la invención pueden ser eficazmente utilizados para el tratamiento de cualquier enfermedad cuya etiología esté relacionada bien con alteraciones de los niveles, de la composición, de la estructura, o de cualquier otro tipo de alteración, de los lípidos de las membranas biológicas o bien con una regulación alterada de la señalización celular consecuencia de dichas alteraciones en dichos lípidos presentes en las membranas biológicas. De forma adicional, los lípidos recogidos en esta invención también se pueden emplear como medicamentos cuando una enfermedad se produzca como resultado de otra alteración pero el resultado de la modulación de las propiedades y/o funciones de membrana sea capaz de revertir el proceso patológico.

Para este estudio de los efectos terapéuticos de los ácidos grasos de la presente invención se emplearon líneas celulares en cultivo y se investigó la actividad de OH-AGPI y AGPI para el tratamiento de diferentes enfermedades en dichos modelos celulares.

ES 2 345 241 A1

La estructura de las moléculas investigadas se muestran en la Tabla 1, exhibiéndose aquéllos particularmente preferidos de la presente invención bajo las abreviaturas: 182A1, 183A1, 183A2, 204A1, 205A1, 226A1. Dichos compuestos particularmente preferidos se ajustan a la Fórmula I arriba presentada atendiendo a los siguientes valores de *a*, *b* y *c*:

OH-AGPI	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>
182A1	6	2	3
183A1	6	3	0
183A2	3	3	3
204A1	2	4	3
205A1	2	5	0
226A1	2	6	0

TABLA 1

Nombre de la molécula	Estructura	Prop.	Abrev.
Ácido 2-hidroxi-9,12-octadecadienoico	COOH-CHOH-(CH ₂) ₆ -(CH=CH-CH ₂) ₂ -(CH ₂) ₃ -CH ₃	S, OH	182A1
Ácido 2-hidroxi-9,12,15-octadecatrienoico	COOH-CHOH-(CH ₂) ₆ -(CH=CH-CH ₂) ₃ -CH ₃	S, OH	183A1
Ácido 2-hidroxi-6,9,12-octadecatrienoico	COOH-CHOH-(CH ₂) ₃ -(CH=CH-CH ₂) ₃ -(CH ₂) ₃ -CH ₃	S, OH	183A2
Ácido 2-hidroxi-5,8,11,14-eicosatetraenoico	COOH-CHOH-(CH ₂) ₂ -(CH=CH-CH ₂) ₄ -(CH ₂) ₃ -CH ₃	S, OH	204A1
Ácido 2-hidroxi-5,8,11,14,17-eicosapentaenoico	COOH-CHOH-(CH ₂) ₂ -(CH=CH-CH ₂) ₅ -CH ₃	S, OH	205A1
Ácido 2-hidroxi-4,7,10,13,16,19-docosahexaenoico	COOH-CHOH-CH ₂ -(CH=CH-CH ₂) ₆ -CH ₃	S, OH	226A1
Ácido 9,12-octadecadienoico	COOH-(CH ₂) ₇ -(CH=CH-CH ₂) ₂ -(CH ₂) ₃ -CH ₃	N	182
Ácido 9,12,15-octadecatrienoico	COOH-(CH ₂) ₇ -(CH=CH-CH ₂) ₃ -CH ₃	N	183A
Ácido 6,9,12-octadecatrienoico	COOH-(CH ₂) ₄ -(CH=CH-CH ₂) ₃ -(CH ₂) ₃ -CH ₃	N	183G
Ácido 5,8,11,14-eicosatetraenoico	COOH-(CH ₂) ₃ -(CH=CH-CH ₂) ₄ -(CH ₂) ₃ -CH ₃	N	204
Ácido 5,8,11,14,17-eicosapentaenoico	COOH-(CH ₂) ₃ -(CH=CH-CH ₂) ₅ -CH ₃	N	205
Ácido 4,7,10,13,16,19-docosahexaenoico	COOH-(CH ₂) ₂ -(CH=CH-CH ₂) ₆ -CH ₃	N	226

Prop: Propiedades. **S:** sintético. **N:** natural. **OH:** hidroxilado en el carbono 2 (carbono α).

ES 2 345 241 A1

Ejemplo 1

Porcentaje de AGPI totales en membranas de células tratadas con AGPI y OH-AGPI

5 Los OH-AGPI son moléculas sintéticas de carácter hidrofóbico, por lo que las células expuestas a ellos presentan altos niveles de estos ácidos grasos en su superficie.

10 La Tabla 2 muestra el porcentaje total de AGPI en membranas de células 3T3 tratadas con 100 μ M de dichos ácidos grasos durante 48 horas. Para realizar estos experimentos, se extrajeron las membranas y se obtuvieron los ácidos grasos totales por hidrólisis en medio básico. Las bases metanólicas de dichos ácidos grasos se cuantificaron por cromatografía de gases. Los datos mostrados son medias de cuatro medidas independientes de la masa de AGPI dividida por la de ácidos grasos totales y expresada en forma de porcentaje. También se indica el error estándar de la media. En cultivos celulares, las células 3T3 incubadas en presencia de dichos ácidos grasos presentaron niveles mayores de AGPI (incluidos OH-AGPI) y menores de ácidos grasos saturados.

15 El control corresponde a un cultivo sin la presencia de ácidos grasos. Las células poseen de forma natural AGPI en sus membranas, pero la presencia en el medio de los OH-AGPI de la invención hace que aumenten dichos niveles de AGPI en la membrana celular.

20

TABLA 2

25

Lípido añadido	Porcentaje de AGPI totales
Ninguno (Control)	32,4 \pm 2,1
182A1	42,3 \pm 3,1
183A1	42,8 \pm 2,2
183A2	44,0 \pm 2,6
204A1	45,5 \pm 2,9
205A1	46,7 \pm 3,4
226A1	48,9 \pm 3,7

30

45 Ejemplo 2

Transición L (lamelar) - H_{II} (hexagonal) en membranas celulares de DEPE (dielaidoil fosfatidiletanolamina)

50 La Tabla 3 muestra la temperatura de transición lamelar-hexagonal (H_{II}) en membranas modelo de DEPE. La temperatura de transición se determinó mediante calorimetría diferencial de barrido. La proporción DEPE:OH-AGPI fue 10:1 (mol:mol) en todos los casos.

55 El control corresponde a un cultivo sin la presencia de ácidos grasos. La reducción en la temperatura de transición H_{II} conseguida mediante el empleo de los OH-AGPI de la invención indica una mayor inducción de discontinuidades de membrana, lo que genera lugares de anclaje para proteínas periféricas en la membrana y da lugar a una mejor regulación de la señalización celular y, por lo tanto, una mayor eficacia para el control de ciertas enfermedades.

60

65

TABLA 3

	Lípido añadido	Temperatura de transición
5	Ninguno (Control)	64,5
10	182A1	51,8
	183A1	51,6
15	183A2	50,1
	204A1	49,3
	205A1	47,9
20	226A1	44,4

Ejemplo 3

Unión de la proteína Gi₁ (trímero) a la membrana celular modelo

30 Dicha regulación de la composición lipídica de la membrana dio lugar a cambios en la estructura de membrana, medida por calorimetría diferencial de barrido, que da lugar a variaciones en la localización de proteínas G en membranas celulares modelo como se muestra en la Tabla 4. El resultado neto es una regulación de la señalización celular que da lugar a la reversión de diferentes procesos patológicos como se muestra más adelante.

35 La Tabla 4 muestra la unión de proteína Gi₁ heterotrimérica a membranas modelo de fosfatidilcolina:fosfatidiletanolamina (6:4, mohl) medidas por ensayos de centrifugación, seguida de inmunoblot, visualización por quimioluminiscencia y cuantificación por análisis de imagen. Para estos experimentos se empleó 2 mM de fosfolípidos y 0,1 mM de los diferentes OH-AGPI indicados en la Tabla 4. El control corresponde a un cultivo sin la presencia de ácidos grasos.

40 Estos resultados indican que la modificación de las propiedades estructurales y funcionales de la membrana aumenta a medida que aumenta el número de dobles instauraciones. Tanto la presencia de instauraciones como la del residuo OH disminuyen la tasa de metabolización de los AGPI. Este hecho, unido al efecto particular de estos lípidos sobre la estructura de membrana, indica que la acción sobre las células patológicas tiene una raíz común.

45 De hecho, se observó una buena correlación entre el efecto farmacológico y el efecto que los lípidos tienen sobre la estructura de membrana.

TABLA 4

	Lípido añadido	Unión de proteína G
50	Ninguno (Control)	100±5
55	182A1	312±12
	183A1	328±9
60	183A2	357±17
	204A1	385±22
	205A1	406±14
65	226A1	422±26

Ejemplo 4

Uso de 2-Hidroxiderivados de AGPI para el tratamiento de cáncer

5 El cáncer es una patología que se caracteriza por la proliferación incontrolada de células transformadas. En este sentido, los AGPI naturales mostraron una eficacia modesta frente al desarrollo de células humanas de cáncer (A549) a las concentraciones empleadas en este estudio (Fig. 1). Sin embargo, los OH-AGPI mostraron una eficacia marcada y significativamente superior a las moléculas no modificadas en el carbono 2 (Fig. 1) a las mismas concentraciones. Estos resultados indican que la modificación introducida sobre ácidos grasos poliinsaturados naturales para dar lugar a 2-hidroxiderivados aumenta de forma significativa la potencia antitumoral de estos compuestos, por lo que tienen una gran utilidad en el tratamiento y prevención de enfermedades tumorales a través de aproximaciones farmacéuticas y nutracéuticas en humanos y animales.

15 Para estos experimentos se cultivaron células de adenocarcinoma pulmonar humano no microcítico (A549) en medio RPMI 1640, suplementado con 10% de suero fetal bovino y antibióticos, a 37°C y con un 5% de CO₂. Las células se mantuvieron en cultivo durante 48 horas en presencia y ausencia de los AGPI y OH-AGPI indicados en la Tabla 1, a una concentración de 250 μM. Al final del tratamiento, se realizó el recuento celular y el estudio de los mecanismos implicados en la actividad antitumoral de los compuestos a través de citometría de flujo. La Figura 1 muestra el porcentaje de supervivencia celular (siendo asignado el 100% a las células tumorales no tratadas). Estos valores corresponden a medias de 3 experimentos independientes.

20 Todos estos resultados indican que los OH-AGPI son útiles para la prevención y tratamiento de cáncer incluidos en composiciones nutracéuticas y farmacéuticas en humanos y animales. Asimismo, se observó que la potencia de acción de los OH-AGPI correlaciona con el aumento del número de dobles enlaces y que la presencia del residuo hidroxilo es esencial para que la potencia antitumoral de los lípidos tenga relevancia a nivel terapéutico.

Ejemplo 5

30 *Uso de 2-Hidroxiderivados de AGPI para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares*

Para investigar la utilidad de los OH-AGPI para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares, se emplearon células de aorta en cultivo (línea celular A-10). Estas células se mantuvieron en cultivo con medio completo (C, suplementado con 10% de suero fetal bovino y PDGF) y medio incompleto (CSS, suplementado con 1% de suero fetal bovino sin PDGF). Los cultivos se realizaron de forma similar a como se describe en el apartado anterior, durante un período de 72 horas. Tras dicho período de incubación, se realizó el recuento de células mediante citometría de flujo.

40 En el medio incompleto (CSS, control sin suplemento de PDGF), las células tienen un comportamiento no proliferativo, similar al que se produce en un organismo sano. El comportamiento proliferativo que se produce en medio completo sería una situación similar a la que se produce en un organismo patológico. La presencia de OH-AGPI produjo una reducción considerable de la proliferación de células normales de aorta A-10 en medio de cultivo completo, con agentes proliferativos. En presencia de estas moléculas, los recuentos de células A10 fueron similares a los obtenidos medio incompleto (CSS), a pesar de disponer de todos los factores proliferativos necesarios para multiplicarse (Fig. 2). A diferencia de éstos, los AGPI mostraron una baja o nula eficacia antiproliferativa, lo que demuestra que la modificación introducida sobre estos ácidos grasos aumenta sustancialmente su potencial farmacológico para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares, como la hipertensión, la arteriosclerosis, la isquemia, las cardiomiopatías, etc. Los efectos en esta línea celular no se pueden considerar tóxicos por dos motivos: (1) En medio completo, los OH-AGPI no indujeron nunca reducciones en la proliferación celular por debajo de los niveles celulares de las células incubadas en medio incompleto; y (2) las células de aorta (A10) tratadas con OH-AGPI no mostraron signos moleculares o celulares de necrosis, apoptosis o cualquier otro tipo de muerte celular. Dado que la proliferación de células vasculares está implicada en el desarrollo de numerosas patologías cardiovasculares, los OH-AGPI son útiles para la prevención y tratamiento de dichas enfermedades a través de aproximaciones nutracéuticas y farmacéuticas en humanos y animales.

55

Ejemplo 6

Uso de 2-Hidroxiderivados de AGPI para el tratamiento de obesidad

60 La Figura 3 muestra como los AGPI (tanto los naturales como los sintéticos) son capaces de inhibir la hiperplasia e hipertrofia de células adiposas. Para este estudio se empleó la línea celular de adipocitos 3T3-L1. Este efecto ya era conocido y había sido descrito con anterioridad para los AGPI naturales no modificados (Hill *et al.*, 1993). Sin embargo, los OH-AGPI tienen una mayor potencia para inhibir la proliferación de células grasas (Fig. 3). Este efecto no es tóxico en ningún caso, ya que la inhibición del crecimiento de adipocitos no produjo reducciones de la proliferación celular por debajo de los niveles de células cultivadas en medio incompleto (con 1% de suero). Los medios y condiciones empleadas para el cultivo de estas células fueron similares a las descritas anteriormente.

ES 2 345 241 A1

Estos resultados demuestran que los OH-AGPI tienen una elevada potencia para inhibir el crecimiento de células grasas y, por ello, para la prevención y el tratamiento la obesidad y otros procesos relacionados con la acumulación de adipocitos corporales a través de aproximaciones nutraceuticas o farmaceuticas en animales y humanos. El efecto, de nuevo, correlacionó con el número de dobles enlaces de las moléculas empleadas y con la presencia del radical hidroxilo en la molécula lipídica.

Ejemplo 7

10 *Uso de 2-Hidroxiderivados de AGPI para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas*

En estos estudios, se emplearon células P19, cuya diferenciación neuronal se indujo con ácido trans-retinoico. Para ello, las células P19 se incubaron en medio esencial mínimo α (α -MEM), suplementado con 10% de suero fetal bovino, y 2 μ M de ácido trans-retinoico, a 37°C en presencia de 5% de CO₂. Las células se incubaron en presencia o ausencia de varios AGPI y OH-AGPI a diferentes concentraciones durante 24 horas. El efecto neurotóxico se indujo con 1 mM de NMDA durante 1 hora.

Posteriormente, se contó el número de células mediante microscopia óptica en presencia de azul de tripan. Estos experimentos demostraron que los AGPI tienen un efecto protector sobre la degeneración neuronal, aunque el efecto mediado por los OH-AGPI es mucho mayor (Fig. 4).

Ejemplo 8

25 *Uso de 2-Hidroxiderivados de AGPI para el tratamiento de enfermedades metabólicas*

Los tratamientos con ciertos AGPI produjeron reducciones modestas en los niveles de colesterol y triglicéridos en células 3T3-L1. Sin embargo, los tratamientos con OH-AGPI dieron lugar a reducciones marcadas y significativas en los niveles de colesterol y triglicéridos en estas células. Para estos experimentos, se incubaron las células arriba indicadas en medio RPMI 1640 en presencia de 10% de suero fetal bovino, a 37°C y con 5% CO₂, y en presencia o ausencia de 150 μ M de diferentes AGPI o OH-AGPI. Las células se incubaron durante 24 h y posteriormente se realizó la extracción de lípidos y se midieron los niveles de colesterol y triglicéridos siguiendo procedimientos descritos anteriormente (Folch *et al.*, 1957).

Los resultados mostrados en la Figura 5 indican claramente que los OH-AGPI pueden utilizarse como fármacos para el tratamiento o la prevención de metabolopatías, como la hipercolesterolemia y la hipertrigliceridemia, en humanos y animales, a través de aproximaciones farmaceuticas o nutraceuticas.

40 Ejemplo 9

Bases estructurales de los efectos terapéuticos de los 2-hidroxiderivados de AGPI

Numerosos estudios han demostrado que la ingesta o tratamiento con lípidos da lugar a cambios en la composición lipídica de las membranas celulares. Por otro lado, dicha composición tiene un efecto directo sobre la estructura lipídica de la membrana, que a su vez regula la señalización celular y está relacionada con la aparición de numerosas enfermedades. La Fig. 6 muestra la correlación existente entre los cambios que producen en la estructura de membrana los diferentes OH-AGPI (medidos por la temperatura de transición H_{II}) y los efectos celulares observados en este estudio. Para ello, se determinó la media del efecto producido por cada uno de los OH-AGPI (promedio de cada lípido para todas las enfermedades estudiadas en función del número de dobles enlaces) y se ha representado frente a la temperatura de transición. La reducción en la temperatura de transición H_{II} indica una mayor inducción de discontinuidades de membrana, lo que genera lugares de anclaje para proteínas periféricas en la membrana y da lugar a una mejor regulación de la señalización celular y, por lo tanto, una mayor eficacia para el control de ciertas enfermedades. De todas formas, el hecho de que en organismos complejos los fármacos puedan ser metabolizados y que ciertos mecanismos adicionales puedan operar en tipologías (subtipos) de algunas enfermedades, sugiere que alguna de las moléculas con menor número de dobles enlaces pueda tener mayor actividad farmacológica. Sin embargo, y en líneas generales, se ha observado que el efecto terapéutico depende del número de dobles enlaces que tiene la molécula, que a su vez está relacionado con la capacidad de regular la estructura de membrana. En este sentido, la presencia de un radical OH, presente en los OH-AGPI, pero no en los AGPI, es indispensable para potenciar el efecto terapéutico de estas moléculas.

Estos resultados indican que los efectos de los lípidos recogidos en esta invención tienen una base común. Estas correlaciones (con valores de r^2 de 0,77 y 0,9 para los OH-AGPI y $P < 0,05$ en ambos casos) indican claramente que la estructura de los lípidos utilizados es la base de su efecto y que el mismo se produce a través de la regulación de la estructura de membrana, originada por la relación estructura-función de cada lípido.

Así, la presente invención se refiere en un primer aspecto a compuestos de Fórmula (I), o sus derivados farmacéuticamente aceptables donde a , b y c pueden tener valores independientemente entre 0 y 7, para ser usados en

el tratamiento de enfermedades basadas en alteraciones estructurales y/o funcionales de los lípidos de la membrana celular seleccionadas entre: cáncer, enfermedades vasculares, enfermedades metabólicas, obesidad y enfermedades neurodegenerativas. En una realización preferida de la invención se excluirían los compuestos de Fórmula (I) donde $a=6$, $b=3$ y $c=0$ y donde $a=4$, $b=5$ y $c=0$ para ser usados en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares y metabólicas.

Un segundo aspecto de la presente invención se refiere al uso de al menos un compuesto de Fórmula (I), o sus derivados farmacéuticamente aceptables, donde a , b y c pueden tener valores independientemente entre 0 y 7, para la elaboración de una composición farmacéutica y/o nutracéutica destinada al tratamiento de enfermedades basadas en alteraciones estructurales y/o funcionales de los lípidos de la membrana celular seleccionadas entre: cáncer, enfermedades vasculares, enfermedades metabólicas, obesidad y enfermedades neurodegenerativas. En una realización preferida de la invención se excluirían los compuestos de Fórmula (I) donde $a=6$, $b=3$ y $c=0$ y donde $a=4$, $b=5$ y $c=0$ para ser usados en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares y metabólicas.

El último aspecto de la presente invención se refiere a un método para el tratamiento terapéutico de enfermedades en humanos y animales cuya etiología común está relacionada con alteraciones estructurales y/o funcionales de los lípidos localizados en la membrana celular seleccionadas entre: cáncer, enfermedades vasculares, enfermedades metabólicas, obesidad y enfermedades neurodegenerativas; que comprende la administración al paciente de una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un compuesto de Fórmula (I), y/o de sus sales farmacéuticamente aceptables, donde a , b y c pueden tener valores independientes entre 0 y 7. En una realización preferida se excluiría la administración de compuestos de Fórmula (I) donde $a=6$, $b=3$ y $c=0$ y donde $a=4$, $b=5$ y $c=0$ para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares y metabólicas.

Referencias

Alemaný, R., Perona, J.S., Sánchez-Domínguez, J.M., Montero, E., Cañizares, J., Brezan, R., Escribá, P.V., Ruiz-Gutierrez, V. (2007) *Biochim. Biophys. Acta* **1768**, 964-975.

Alemaný, R., Terés, S., Baamonde, C., Benet, M., Vögler, O., Escribá, P.V. (2004) *Hypertension* **43**, 249-254.

Buda, C., Dey, I., Balogh, N., Norvath, L. I., Maderspach, K., Juhasz, M., Leo, Y. K. & Farkas, T. (1994) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **91**, 8234-8238.

Escribá, P. V. (2006) *Trends Mol. Med.* **12**, 34-43.

Escribá, P. V., González-Ros, J. M., Goñi, F. M., Kinnunen, P. K. J., Vigh, L., Sánchez-Magraner, L., Fernández, A. M., Busquets, X., Horváth, I., y Barceló-Coblijn, G. (2008) *J. Cell. Mol. Med.* **12**, 829-875.

Escribá, P.V., Ozaita, A., Ribas, C., Miralles, A., Fodor, E., Farkas, T., y García-Sevilla, J.A. (1997) *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **94**, 11375-11380.

Escribá, P.V., Sanchez-Dominguez, J.M., Alemaný, R., Perona, J. S., Ruiz-Gutierrez, V. (2003) *Hypertension* **41**, 176-182.

Escribá, P. V., Sastre, M., y García-Sevilla, J. A. (1995) *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **92**, 7595-7599.

Florent, S., Malaplate-Armand, C., Youssef, I., Kriem, B., Koziel, V., Escanyé, M.C., Fifre, A., Sponne, I., Leininger-Muller, B., Olivier, J.L., Pillot, T., Oster, T. (2006) *J. Neurochem.* **96**, 385-395.

Folch, J., Lees, M., Sloane Stanley, G.H. (1957) *J. Biol. Chem.* **226**, 497-509.

Hill, J.O., Peters, J.C., Lin, D., Yakubu, F., Greene, H., Swift, L. (1993) *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* **17**, 223-236.

Jackson, C.L., Schwartz, S.M. (1992) *Hypertension* **20**, 713-736.

Jung, U.J., Torrejon, C., Tighe, A.P., Deckelbaum, R.J. (2008) *Am. J. Clin. Nutr.* **87**, 2003S-2009S.

Lane, R.M., Farlow, M.R. (2005) *J. Lipid Res.* **46**, 949-968.

Martínez, J., Vögler, O., Casas, J., Barceló, F., Alemaný, R., Prades, J., Nagy, T., Baamonde, C., Kasprzyk, P. G., Terés, S., Saus, C., y Escribá, P. V. (2005) *Mol. Pharmacol.* **67**, 531-540.

Sagin, F.G., Sozmen, E.Y. (2008) *Curr. Alzheimer Res.* **5**, 4-14.

Schwartz, S.M., Campbell, G.R., Campbell, J.H. (1986) *Circ. Res.* **58**, 427-444.

Stender, S., Dyerberg, J. (2004) *Ann. Nutr. Metab.* **48**, 61-66.

ES 2 345 241 A1

Trombetta, A., Maggiora, M., Martinasso, G., Cotogni, P., Canuto, R.A., Muzio, G. (2007) *Chem. Biol. Interact.* **165, 239-250.**

Vögler, O., Barceló, J., Riba, C., Escribá, P.V. (2008) *Biochim. Biophys. Acta* **1778, 1640-1652.**

5

Vögler, O., Casas, J., Capó, D., Nagy, T., Borchert, G., Martorell, G., y Escribá, P. V. (2004) *J. Biol. Chem.* **279, 36540-36545.**

10

Yang, Q., Alemany, R., Casas, J., Kitajka, K., Lanier, S.M, y Escribá, P.V. (2005) *Mol. Pharmacol.* **68, 210-217.**

15

20

25

30

35

40

45

50

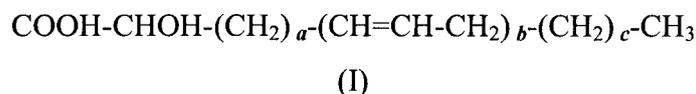
55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Compuestos de Fórmula (I), o sus derivados farmacéuticamente aceptables:



donde a , b y c pueden tener valores independientes entre 0 y 7, para ser usados en el tratamiento de enfermedades basadas en alteraciones estructurales y/o funcionales y/o de composición de los lípidos de la membrana celular seleccionadas entre: cáncer, enfermedades vasculares, enfermedades metabólicas, obesidad y enfermedades neurodegenerativas.

2. Compuestos de Fórmula (I), o sus derivados farmacéuticamente aceptables, según la reivindicación 1, **caracterizados** por tener al menos una de las siguientes cinco combinaciones de valores a , b y c :

$$a=6, b=2 \text{ y } c=3$$

$$a=3, b=3 \text{ y } c=3$$

$$a=2, b=4 \text{ y } c=3$$

$$a=2, b=5 \text{ y } c=0$$

$$a=2, b=6 \text{ y } c=0$$

para ser usados en el tratamiento de enfermedades basadas en alteraciones estructurales y/o funcionales y/o de composición de los lípidos de la membrana celular seleccionadas entre: cáncer, enfermedades vasculares, enfermedades metabólicas, obesidad y enfermedades neurodegenerativas.

3. Compuesto de Fórmula (I), o sus derivados farmacéuticamente aceptables, según la reivindicación 1, donde $a=6$, $b=3$ y $c=0$ para ser usado en el tratamiento de enfermedades basadas en alteraciones estructurales y/o funcionales y/o de composición de los lípidos de la membrana celular seleccionadas entre: cáncer y enfermedades neurodegenerativas.

4. Uso de al menos un compuesto de Fórmula (I), o sus derivados farmacéuticamente aceptables, donde a , b y c pueden tener valores independientes entre 0 y 7, para la elaboración de una composición farmacéutica y/o nutracéutica destinada al tratamiento de enfermedades basadas en alteraciones estructurales y/o funcionales y/o de composición de los lípidos de la membrana celular seleccionadas entre: cáncer, enfermedades vasculares, enfermedades metabólicas, obesidad y enfermedades neurodegenerativas.

5. Uso, según la reivindicación 4, de al menos un compuesto de Fórmula (I), o sus derivados farmacéuticamente aceptables, resultante de la selección de al menos una de las siguientes cinco combinaciones de valores a , b y c :

$$a=6, b=2 \text{ y } c=3$$

$$a=3, b=3 \text{ y } c=3$$

$$a=2, b=4 \text{ y } c=3$$

$$a=2, b=5 \text{ y } c=0$$

$$a=2, b=6 \text{ y } c=0$$

para la elaboración de una composición farmacéutica y/o nutracéutica destinada al tratamiento de enfermedades basadas en alteraciones estructurales y/o funcionales y/o de composición de los lípidos de la membrana celular seleccionadas entre: cáncer, enfermedades vasculares, enfermedades metabólicas, obesidad y enfermedades neurodegenerativas.

ES 2 345 241 A1

6. Uso, según la reivindicación 4, del compuesto de Fórmula (I), o sus derivados farmacéuticamente aceptables, donde $a=6$, $b=3$ y $c=0$ para la elaboración de una composición farmacéutica y/o nutracéutica destinada al tratamiento de enfermedades basadas en alteraciones estructurales y/o funcionales y/o de composición de los lípidos de la membrana celular, seleccionadas entre: cáncer y enfermedades neurodegenerativas.

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

Figura 1

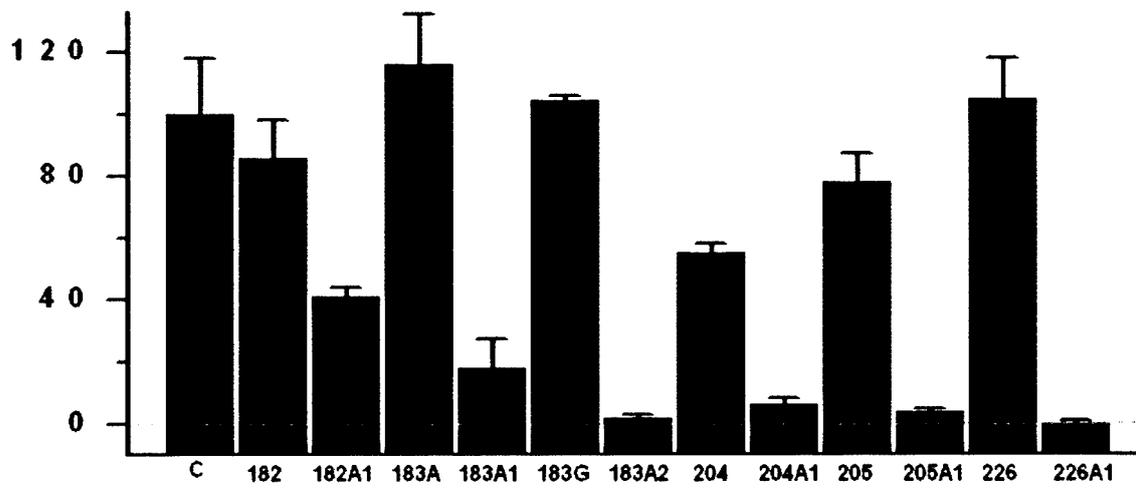


Figura 2

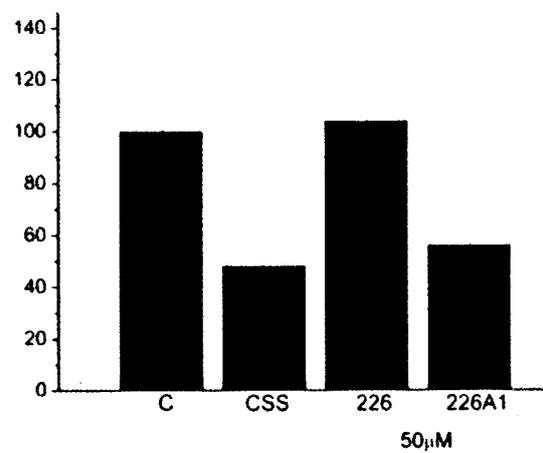
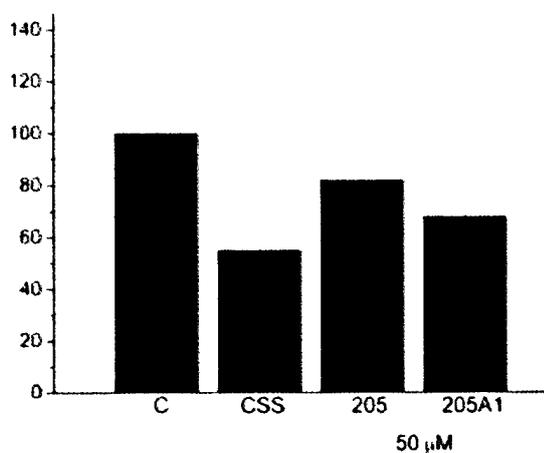
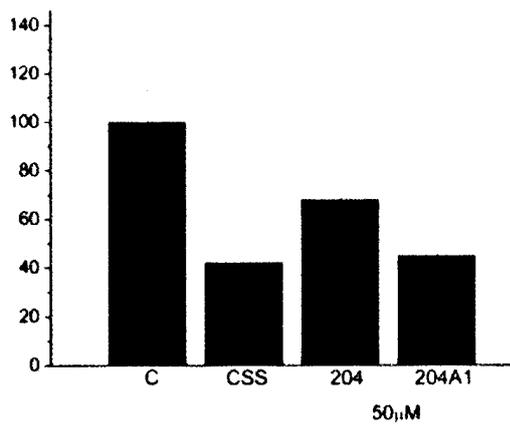
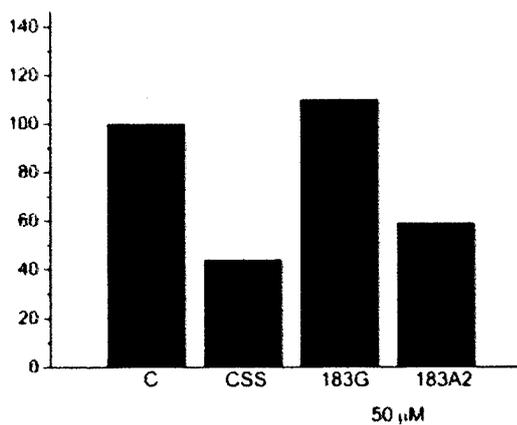
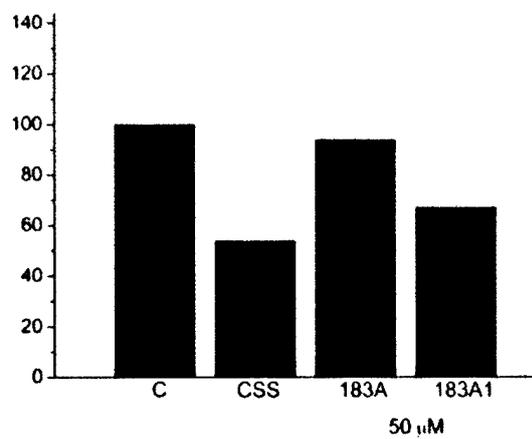
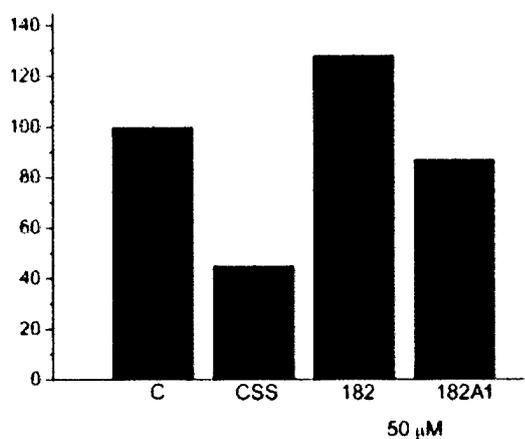


Figura 3

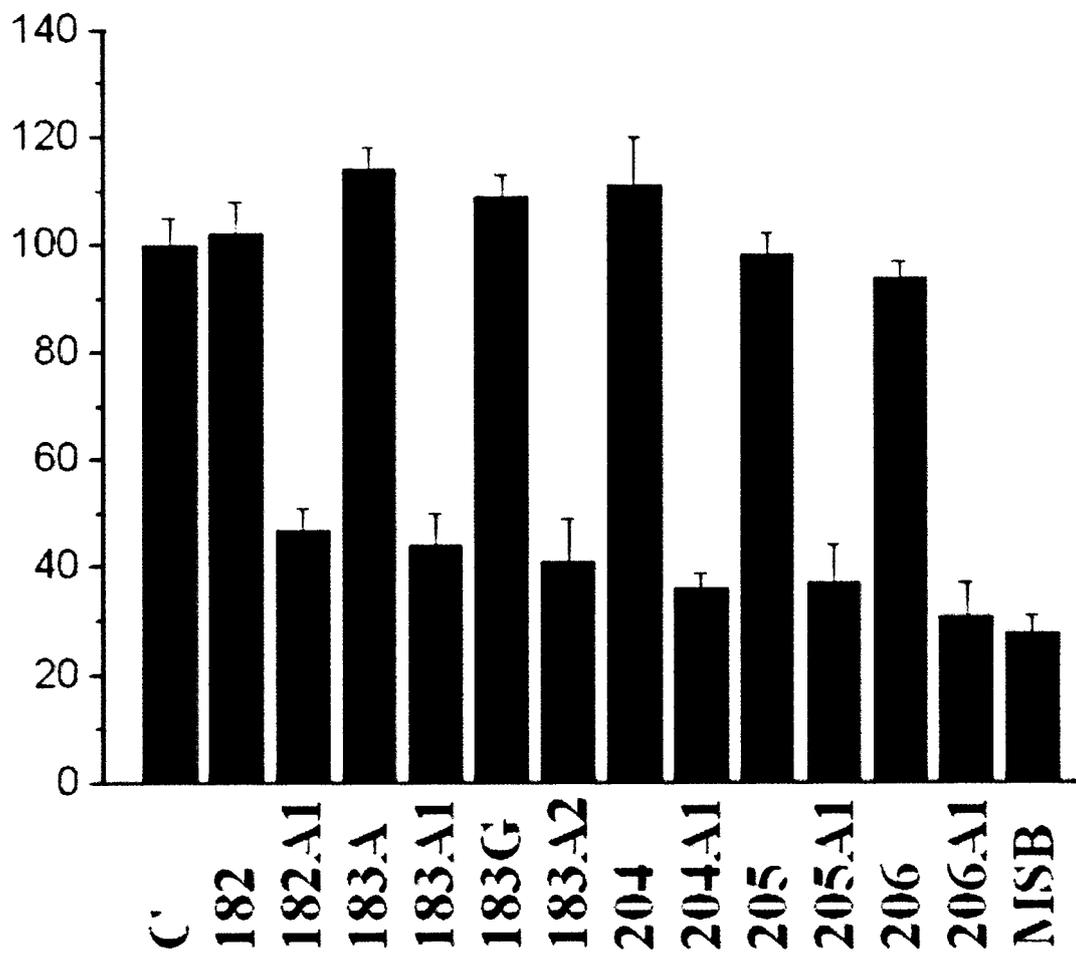


Figura 4

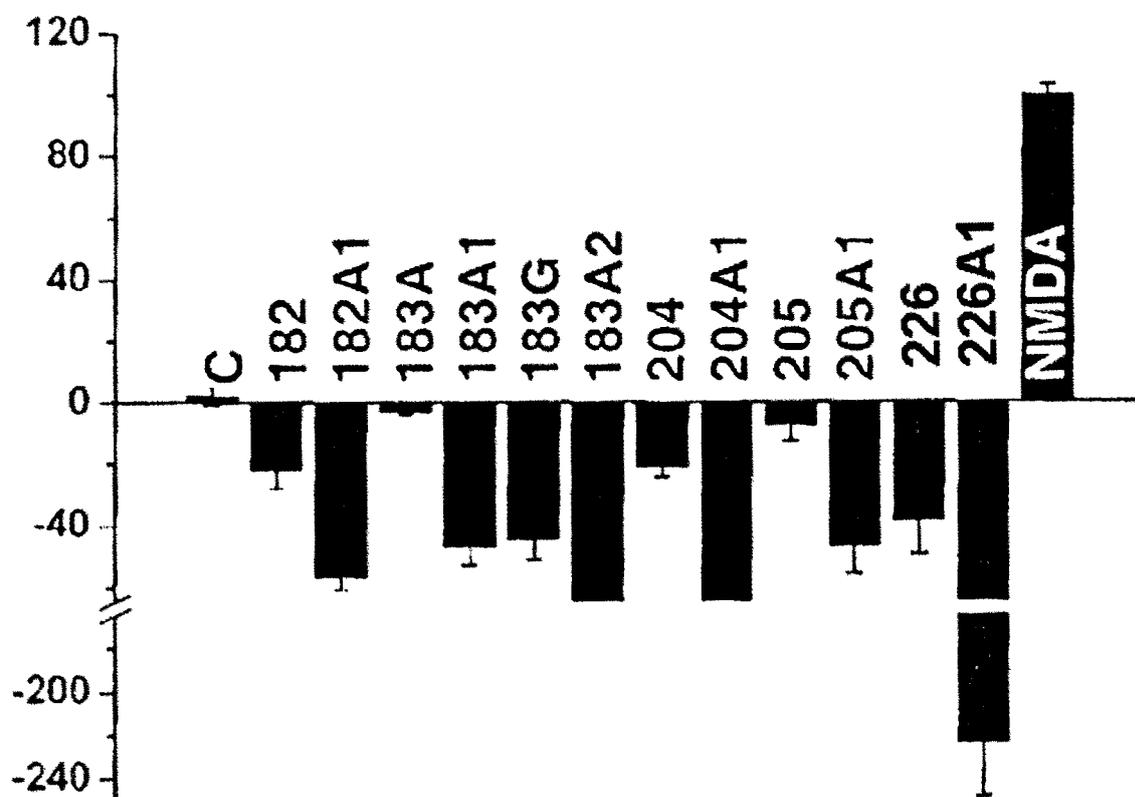


Figura 5 A

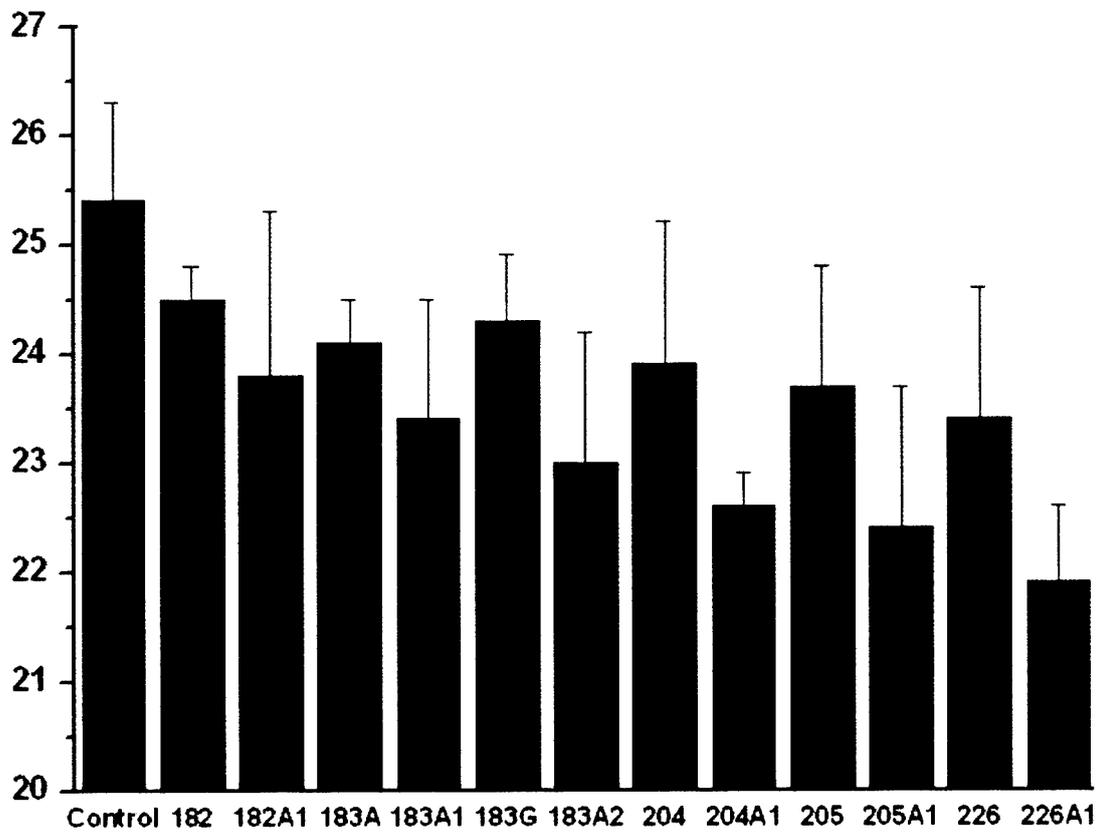


Figura 5B

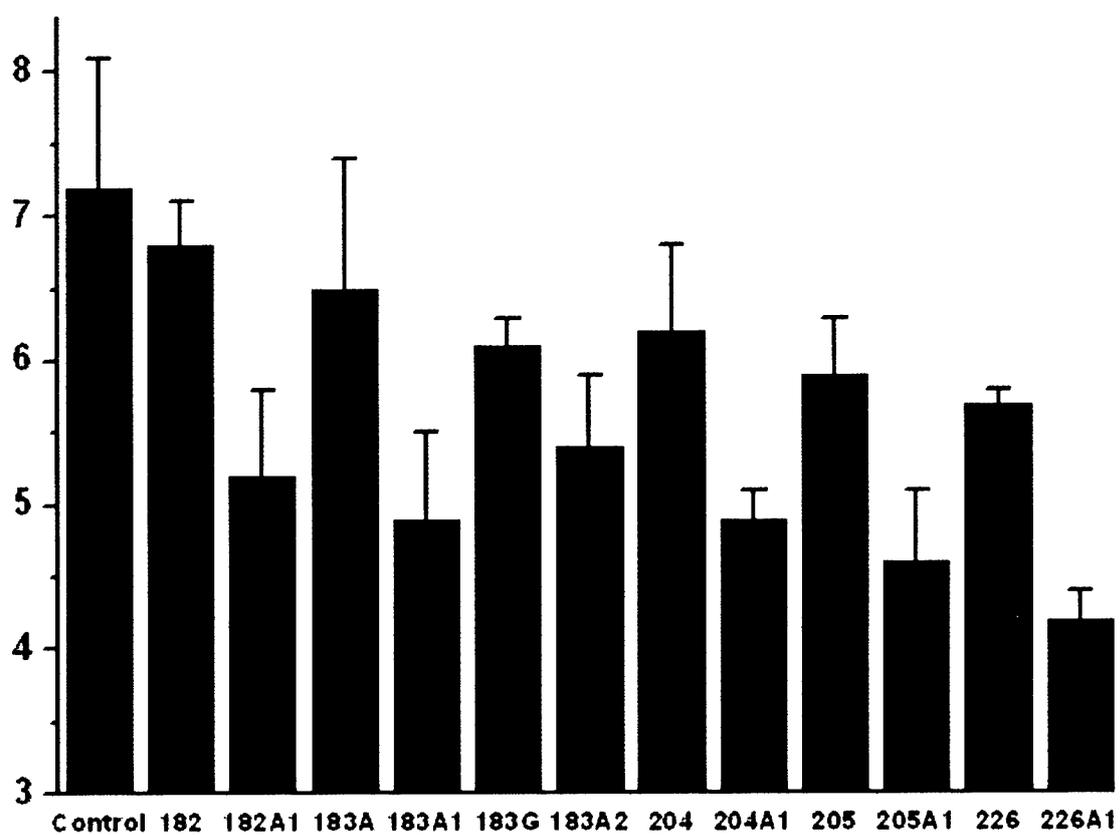


Figura 6 A

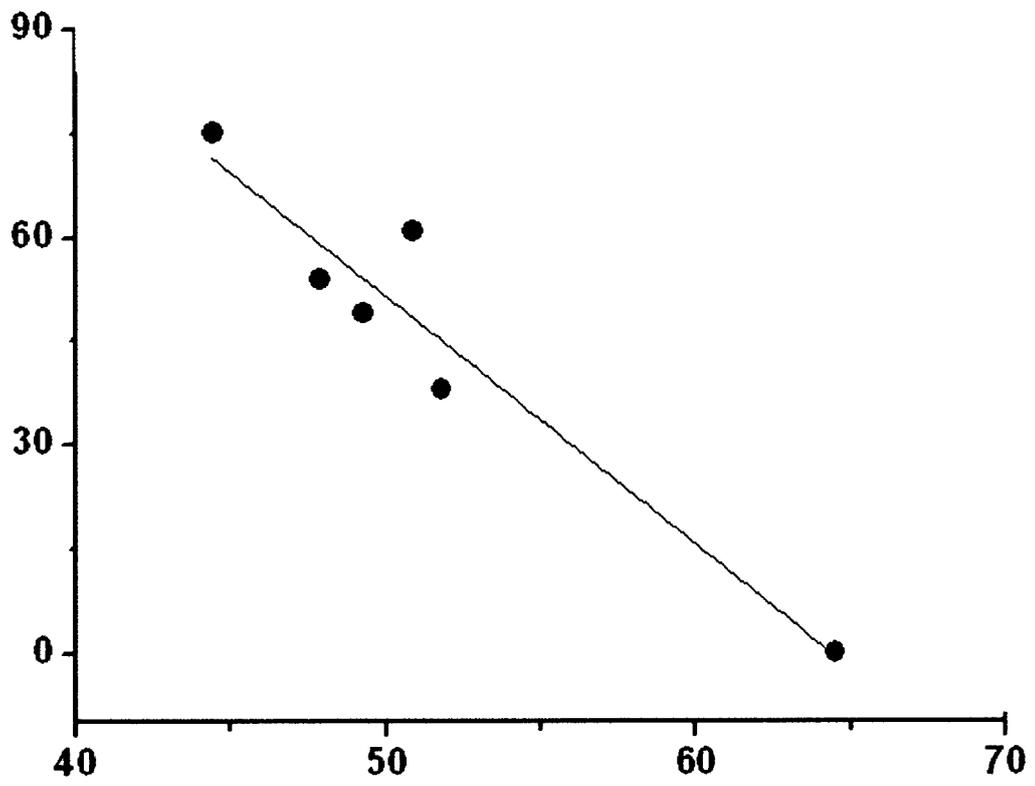
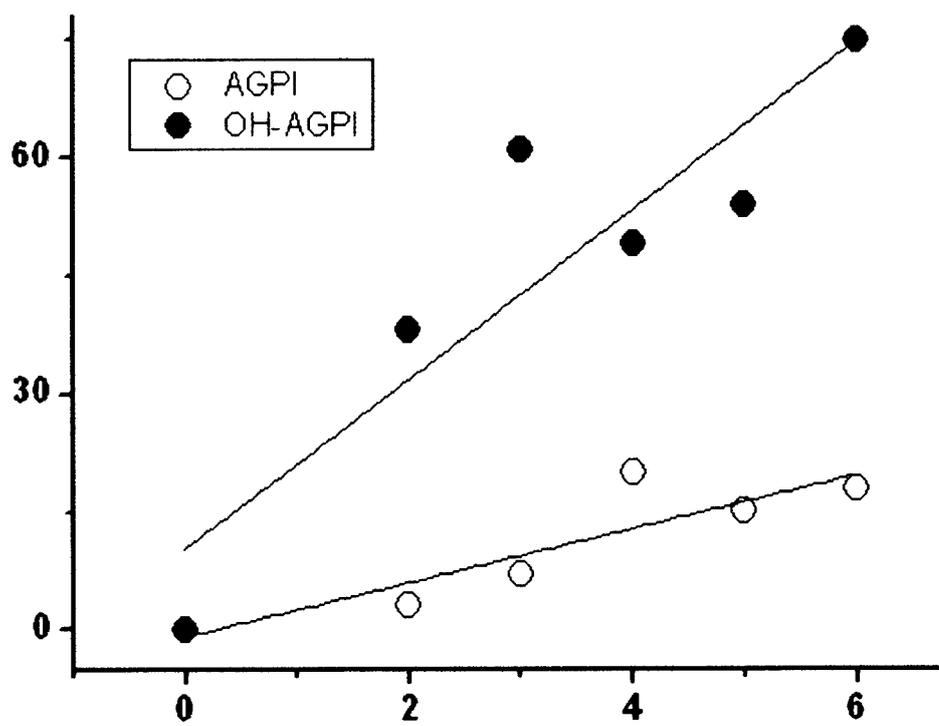


Figura 6 B





OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

① ES 2 345 241

② Nº de solicitud: 200900725

③ Fecha de presentación de la solicitud: **16.03.2009**

④ Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤ Int. Cl.: **C07C 59/42** (2006.01)
A61K 31/20 (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	ES 2161146 A1 (CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTIFICAS) 16.11.2001, tabla 1; reivindicaciones.	1-3
X	BOHANNON, M.B et al.: "Unsaturated C18 alfa- hydroxy acids in Salvia Nilotica". Lipids, 1975, vol. 10, nº 11, páginas 703-706. tabla I, página 705, columna 2.	1-3

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe

17.08.2010

Examinador

H. Aylagas Cancio

Página

1/4

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

C07C, A61K

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, MEDLINE, NPL, EMBASE, BIOSIS, REGISTRY, HCAPLUS

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 17.08.2010

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones	4-6	SÍ
	Reivindicaciones	1-3	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones	4-6	SÍ
	Reivindicaciones	1-3	NO

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de **aplicación industrial**. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión:

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como ha sido publicada.

1. Documentos considerados:

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	ES 2161146 A1	16-11-2001
D02	Lipids, vol. 10, nº11, páginas 703-706.	1975

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

La presente solicitud se refiere a compuestos de fórmula I, tales como ácidos hidroxi octadecadienoico, hidroxi octadecatrienoico, hidroxi eicosatetraenoico, hidroxi eicosapentaenoico, ácidos octadecatrienoico, eicosatetraenoico, eicosapentaenoico (EPA) o docosahexaenoico (DHA), composiciones farmacéuticas o nutracéuticas que los contienen y su uso en la elaboración de una composición farmacéutica y/o nutracéutica destinada al tratamiento de la prevención de enfermedades basadas en alteraciones estructurales y/o funcionales y/o de composición de los lípidos de la membrana celular seleccionadas entre cáncer, enfermedades vasculares, inflamatorias, metabólicas, obesidad y sobrepeso y enfermedades neurodegenerativas o neurológicas

El documento D1 describe la obtención de unos compuestos antimicrobianos, su uso y método para inducir resistencia a infecciones de bacterias en plantas. Entre los compuestos obtenidos se cita el ácido 2-hidroxi-9,12,15 octadecatrienoico obtenido a partir del ácido linolénico (ver reivindicaciones).

El documento D2 se refiere a compuestos insaturados C18 hidroxiácidos encontrados en el aceite de la Salvia Nilotica. En la tabla I y en página 705 columna 2 se cita el ácido alfa-hidroxilinolénico (2-hidroxi-9-12-15-octadecatrienoico).

Por lo tanto, según lo divulgado en los documentos D1 y D2, las reivindicaciones 1-3 carecen de novedad y de actividad inventiva según los artículos 6.1 y 8.1 de la LP.

Ninguno de los documentos citados ni ninguna combinación relevante de ellos revela una composición farmacéutica y/o nutracéutica que contenga compuestos 2- hidroxi derivados de ácidos grasos ni su uso en el tratamiento de enfermedades basadas en alteraciones estructurales y/o el uso de los compuestos de la reivindicación 1-3 en el tratamiento de enfermedades basadas en alteraciones estructurales y/o funcionales y/o de composición de los lípidos de la membrana celular seleccionadas entre cáncer, enfermedades vasculares, inflamatorias, metabólicas, obesidad y sobrepeso y enfermedades neurodegenerativas o neurológicas.

Por lo tanto, la materia de las reivindicaciones 4-6 presenta novedad y actividad inventiva según los artículos 6.1 y 8.1 de la LP.