

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 376 054**

51 Int. Cl.:
A61K 36/185 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 9/10 (2006.01)
A61P 19/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **03762641 .3**
96 Fecha de presentación: **07.07.2003**
97 Número de publicación de la solicitud: **1526862**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **04.05.2005**

54 Título: **SIMMONDSIN PARA USO COMO UN INHIBIDOR ANGIOGENESIS.**

30 Prioridad:
08.07.2002 BE 200200428

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
08.03.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
08.03.2012

73 Titular/es:
**D'OOSTERLYNCK, ANDRE
WESTERRING 12
9700 EINE, BE**

72 Inventor/es:
**D'OOSTERLYNCK, André y
RAES, Stefaan**

74 Agente/Representante:
Arias Sanz, Juan

ES 2 376 054 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

Simmondsin para uso como un inhibidor angiogenesis

5 **Campo del invención**

La patente concierne esencialmente a los nuevos empleos de los componentes activos derivados de la planta de la jojoba (*Simmondsia chinensis* L., C.K. Schneider). La Patente se refiere en particular al empleo de los componentes activos derivados de la jojoba para la fabricación de un fármaco destinado al tratamiento de las enfermedades relacionadas con la angiogénesis por inhibición de la misma.

Contexto

La *Simmondsia chinensis*, comúnmente denominada jojoba, es un arbusto de semillas oleaginosas procedente del desierto de Sonora, que incluye una parte de Arizona, de California y de Méjico. El principal producto extraído de las semillas es una cera líquida de similares características a las del aceite del esperma de ballena. El aceite de jojoba es frecuentemente aplicado como aditivo en los aceites minerales y en los cosméticos.

La harina de jojoba es un producto derivado de la extracción del aceite de las semillas y de la planta de la jojoba. La preparación de la harina de jojoba desgrasada y refinada ya se describió en la solicitud de la patente internacional WO 94/25035. Un extracto polar de esta harina de jojoba desgrasada y refinada esta constituido principalmente de *Simmondsina* y de sus derivados.

La harina de jojoba desgrasada contiene alrededor de un 30 % de proteínas, y su suplementación en la alimentación animal fue señalada como asociada en la reducción de la ingesta de alimentos y en el retraso del crecimiento (Booth y al. 1974 ; Life Sci. 15: 1115-1120 ; Verbiscar y al. 1980 ; Agric. Food Chem. 28: 571-578). Estudios anteriores describieron las propiedades de control de la ingesta de alimentos después de su administración por vía oral de 4,5-diméthylsimmondsina y de su ferulato presentes en la harina de jojoba (Flo y al., 1998 ; J. Agric. Food Chem. 46: 1910-1913).

Uno de los objetivos esta patente es proponer nuevas utilizaciones de composiciones activas derivadas de la planta de jojoba y particularmente de proponer nuevas utilizaciones de las *simmondsinas*.

Resumen de la patente.

La patente se basa en el descubrimiento inesperado de las sustancias activas aisladas de la planta de la jojoba, es decir compuestos de *simmondsina* específicas. Sus ésteres, sus sales, las harinas de semillas de jojoba desgrasadas y refinadas o un extracto polar de las mismas tienen un potente efecto de inhibición de la angiogénesis. La angiogénesis o neovascularización son utilizados aquí como sinónimos y conciernen al fenómeno de la formación de nuevos vasos sanguíneos. La angiogénesis es importante en numerosas patologías que afectan cualquier parte del cuerpo, implicando todas las disciplinas de la medicina. El presente estudio propone la utilización de un compuesto activo derivado de la jojoba, es decir de un compuesto de *simmondsina* específico, de sus formas estereoisoméricas, de sus mezclas racémicas, de sus metabolitos, de sus ésteres o de sus sales, o de sus mezclas, o de una harina de semillas de jojoba desgrasada y refinada o de un extracto polar de esta para la fabricación de un fármaco destinado al tratamiento relacionado con la angiogénesis, tal y como lo define la reivindicación.

Bajo otro aspecto, el estudio propone la utilización de una composición farmacéutica incluyendo una cantidad farmacéuticamente eficaz de un compuesto de *simmondsina* específica, de sus formas estereoisoméricas, de sus mezclas racémicas, de sus metabolitos, de sus ésteres o de sus sales, o de sus mezclas, y de un excipiente farmacéuticamente aceptable destinado a la inhibición del angiogénesis o en el tratamiento de las enfermedades relacionadas con la angiogénesis en el hombre o en el animal, tal y como lo definen las reivindicaciones.

Gracias al resultado de lo expuesto anteriormente y a la descripción siguiente, el presente estudio propone una avanzada técnica inesperada y sin ambigüedades inhibiendo la angiogénesis y permitiendo el tratamiento de las enfermedades relacionadas con la misma y sus potentes propiedades de inhibición de compuestos activos derivados de la jojoba.

Descripción detallada de los esquemas

El esquema 1 representa un cromatograma HPLC de un extracto polar total conseguido a partir de la harina de jojoba desgrasada y refinada.

El esquema 2 ilustra el concepto de una prueba utilizando una membrana corioalantoidea (CAM).

Los esquemas 3, 4 y 5 ilustran los resultados de tres pruebas CAM diferentes utilizando diferentes compuestos de *simmondsinas* según la patente.

El esquema 6 ilustra la inhibición de la proliferación de HUVEC inducidos por el VEGF- α por las *simmondsinas*.

El esquema 7 muestra el efecto de las *simmondsinas* en monocapas confluentes a 15 % y 100 % de HUVEC estimuladas por el β FGF.

El esquema 8 muestra el efecto de las *simmondsinas* en la formación de tubos *in Vitro* en matrices de fibrina en 3D por hMVEC.

El esquema 9 ilustra el efecto de un extracto polar total de harina de jojoba en la formación de tubos *in Vitro* inducida por el VEGF procedente de metacarpianos de ratones fetales.

5 El esquema 10 ilustra el efecto de la harina de jojoba desgrasada y refinada en la vascularización inducida por el β FGF de cámaras de Matrigel *in vivo*.

El esquema 11 ilustra que los compuestos de *simmondsina* según la patente no tienen actividades de tipo estrógeno significativo.

10 Descripción detallada la patente

La presente patente concierne las nuevas utilizaciones y aplicaciones de los compuestos activos derivados de la jojoba y en particular de las nuevas utilizaciones y aplicaciones de las *simmondsias*, tal y como lo define la reivindicación.

15 Tal y como están utilizados aquí, los términos "jojoba", "planta de jojoba" o un término similar designan la planta perteneciente a la subespecie *Simmondsia*. Un ejemplo particular de dicha planta es conocido con el nombre de *Simmondsia chinensis* L., C.K. Schneider.

20 Cada vez que en el presente invento se utilicen los términos "composiciones activas" o un término similar, se da por entendido que las composiciones están derivadas o aisladas de la planta de jojoba. Es necesario comprender que estas composiciones activas pueden estar derivadas o aisladas de todas las partes de la planta de jojoba, sobretodo las hojas, las semillas, los racimos, las ramas, los capullos, etc. El término "composiciones activas" tal y como está utilizado aquí queda entendido, salvo otras partes de la planta de jojoba mencionadas arriba, la harina o un extracto de harina de jojoba.

25 El término « harina de jojoba » tal y como está utilizado aquí designa una harina que es conseguida a partir de la planta de jojoba y, en particular, de sus semillas. Este término designa las formas no tratadas o tratadas, por ejemplo desgrasadas, calentadas, etc. de la harina. Preferentemente, el término "harina de jojoba" designa una harina de jojoba desgrasada y refinada.

La harina de jojoba, así como un producto derivado del proceso de extracción de aceite de semillas de la planta de jojoba, están fácilmente disponibles. La harina de jojoba puede estar preparada según procedimientos conocidos en el arte.

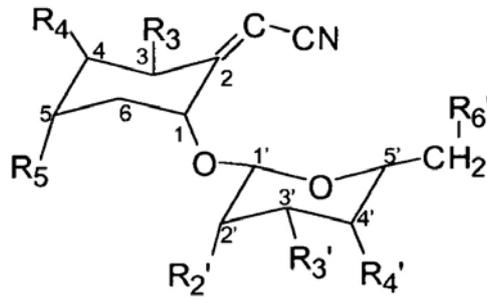
30 La harina de jojoba está generalmente considerada como un residuo en el proceso de preparación del aceite de jojoba y es desechada, fase relativamente rentable desde el punto de vista económico. De manera sorprendente, el presente invento propone ahora una utilización económicamente importante de la harina de jojoba, sobretodo como fármaco destinado en la inhibición de la angiogénesis y en el tratamiento de las enfermedades relacionadas con el mismo. Dicha harina puede igualmente ser utilizada como fuente en la extracción de componentes valiosos, contenidos en la harina que poseen una actividad medicinal.

35 Los términos « extracto de jojoba » o « extracto » o términos similares tal y como están utilizados aquí designan un extracto que se consigue de la harina de jojoba con la ayuda de un solvente polar, como por ejemplo una mezcla de acetona/agua (95/5).

40 El extracto de jojoba tal y como se define aquí puede conseguirse a partir de semillas de jojoba según técnicas conocidas en el arte. Por ejemplo, las semillas de jojoba están primeramente tratadas con el fin de separar la cáscara de la semilla. Después, la harina de jojoba, que contiene aproximadamente 60% de aceite y 40% de materia seca, es extraída con un solvente, por ejemplo un solvente con acetona/hexano (1/9). La fracción de aceite queda eliminada y la materia seca (es decir la harina), que contiene aproximadamente 50% de azúcares, 30% de proteínas, 10% de agua y entre 5 y 10% de *simmondsina* esta nuevamente tratada. La materia seca (harina) queda entonces extraída por ejemplo con un solvente con acetona/agua (95/5) para conseguir un extracto polar.

45 Queda claro según la descripción facilitada anteriormente, que este extracto polar incluye compuestos que se hallan naturalmente en la jojoba, e incluye en particular los compuestos 4-desméthylsimmondsina, 5-desméthylsimmondsina, 4,5-didesméthylsimmondsina, 4,5-diméthylsimmondsina, 4-desméthylsimmondsina-2'-ferulato, 5-desméthylsimmondsina-2'-ferulato, 4,5-didesméthylsimmondsina-2'-ferulato et 4,5-diméthylsimmondsina-2'-férulato.

50 Los términos « *simmondsina* » o "*simmondsinas*" tal y como están utilizados aquí designan formas esencialmente puras de la *simmondsina* así como sus derivados, es decir todas las fuentes y las formas administrables derivadas de o relacionadas con la *simmondsina*, o todas sus mezclas. El término *simmondsina* tal y como esta utilizado aquí procura englobar todas los compuestos que tengan la formula general (I), y sus formas estereoisoméricas, sus mezclas racímicas, sus metabolitos, sus compuestos similares conseguidos por síntesis, sus ésteres (farmaceuticamente aceptables), sus sales o sus mezclas,



Formula (I)

5 en la cual R₄ y R₅ están seleccionados independientemente en el grupo que incluye el grupo -oxo, el hidrógeno, el hidroxilo, el alquilo, el alqueno, el alquino, el alquioxilo, el alquiloxialquilo, el alquiltioalquilo, el alquiloxicarbono, el alquiltiocarbono, el alcohol, el cicloalquilo, el cicloalquilalquilo, el cicloalquilcarbono, el cicloalquilalcanol, el cicloalquiltiocarbono, el cicloalquilalcoxicarbono, el cicloalquilalcoxitiocarbono, el cicloalquiltioalquilo, el alquilcarbonoxialquilo, el arilcarbonoxialquilo, el cicloalquilcarboniloxialquilo, el sililoxialquilo, el arilo, el aralquilo, el arilalquilo, el arilcarbonilo, el ariloxicarbonilo, el ariltiocarbonilo, el aralcoxicarbonilo, el arilalquiltiocarbonilo, el ariloxialquilo, el ariltioalquilo, el haloalquilo, el hidroxialquilo, el aralcanol, el arol, el ariloxicarbonialquino, el ariloxialcanol, el carboxilo, el formol, el alcenicarbonilo, el alcinilcarbonilo, el ciano, el aminocarbonilo, el aminoalcohol, el aminoalquilo, CR⁶=NR⁷ o CR⁶=N(OR⁷), con R⁶ y R⁷ seleccionados independientemente en el grupo que incluye el hidrogeno, el hidroxilo, el alquilo, el aril, el alcenilo, el alcinil, el aminoalquilo, el aminoarilo, el alquilcarbonolamino, el arilcarbonolamino, el alquiltiocarbonlamino y el ariltiocarbonlamino; y

15 en la cual R₃, R₂' , R₃' , R₄' e R₆' están seleccionados independientemente en el grupo que incluye un hidroxilo o un éster.

20 Cada vez que se utilicen a continuación los términos "compuestos" o "compuestos tales como se encuentren definidos aquí" o un término similar, incluyen compuestos que tienen la fórmula general (I) tal y como esta definida y sus formas estereoisoméricas, sus mezclas racímicas, sus metabolitos, sus ésteres o sus sales, o todas sus mezclas.

Dichos compuestos tales y como están definidos aquí pueden estar aislados o derivados de la planta de jojoba. Es necesario entender que este término engloba también los compuestos tal y como están definidos aquí y que no son derivados de la planta de jojoba pero que están sintetizados químicamente según unas técnicas conocidas en el arte.

25 En un modo de realización preferida, la patente concierne la utilización de una *simmondsina* tal y como está definida aquí, que se encuentra naturalmente en la jojoba y que contiene la harina o un extracto de jojoba, como lo definen las reivindicaciones.

Otro modo de realización preferida, la patente concierne le utilización de una *simmondsina*, tal y como está definida aquí, que esta preparada sintéticamente, como lo define la reivindicación.

30 El término « formas estereoisoméricas » de compuestos, tal y como está utilizado aquí, define todos los compuestos posibles constituidos por los mismos átomos relacionados por la misma secuencia de relaciones pero con estructuras tridimensionales diferentes las cuales no son intercambiables, y que los compuestos de la presente patente pueden poseer.

35 Salvo indicación contraria, la denominación química de un compuesto engloba la mezcla de todas las formas estereoquímicamente isoméricas que dicho compuesto puede poseer. Dicha mezcla puede contener todas las formas de diastereómeros y/o enantiómeros de la estructura molecular de dicho compuesto. Todas las formas estereoquímicamente isoméricas de los compuestos utilizados en la primera patente de forma esencialmente pura o en la mezcla de unas con otras están destinadas a estar englobadas aquí.

40 El término « diastereómeros » designa unos estereoisómeros que no son; es decir que tienen propiedades químicas y físicas diferentes. El término "enantiómeros" designa compuestos que no se pueden superponer, es decir que tienen imágenes inversas diferentes; pero tienen una inmensa cantidad de propiedades químicas y físicas idénticas. El término "mezcla racémica" designa mezclas de enantiómeros, de diastereómeros o sus combinaciones.

Las formas estereoisoméricas puras de compuestos como las que se mencionan aquí están definidas como isómeras esencialmente exentas de otras formas enantioméricas o diastereoméricas de misma estructura molecular

- básica de dichos compuestos. Particularmente, el término, "estereoquímicamente pura" concierne compuestos que tengan un exceso estereoisomérico de al menos 80% (es decir 90% mínimo de un isómero y 10% máximo de otros isómeros posibles) hasta un exceso estereoisomérico de 100% (es decir 100% de un isómero y ningún otro), particularmente, de los compuestos o intermediarios que tengan un exceso estereoisomérico de 90% a 100% y particularmente con un exceso estereoisomérico de 94% a 100% y sobretodo uno de 97% a 100%. Los términos "enantioméricamente pura" y "diastereomericamente pura" deben de ser interpretados de la misma manera, pero teniendo relación con respecto al exceso enantiomérico, respectivamente el exceso estereoisomérico de la mezcla en cuestión.
- 5 Las formas estereoisoméricas puras de los compuestos utilizados en este invento pueden ser conseguidas por la aplicación de procedimientos conocidos en el arte. Por ejemplo los enantiómeros pueden estar separados unos de otros por la cristalización selectiva de sus sales diastereoisoméricas con ácidos ópticamente activos. También los enantiómeros pueden estar separados por técnicas de cromatografía utilizando fases fijas quirrales. Dichas formas isoméricas estereoquímicamente puras pueden ser igualmente derivadas de las formas isoméricas estereoquímicamente puras correspondientes de las materias primas apropiadas, a condición que la reacción ocurra de manera estereoespecífica.
- 10 Preferentemente, si un estereoisómero específico es deseado, dicho compuesto será sintetizado con procedimientos estereoespecíficos de preparación. Estos procedimientos emplearan de manera ventajosa las materias puras enantioméricamente puras.
- 15 Las racemicas diastereoisoméricas de fórmula (I) pueden conseguirse separadamente por procedimientos convencionales. Procedimientos de separación físicos apropiados que pueden ser empleados de manera ventajosa son, por ejemplo la cristalización selectiva y la cromatografía, por ejemplo la cromatografía en columna.
- 20 El término « metabolito » según el presente invento designa un producto o un compuesto de *simmondsina*, resultado del metabolismo, es decir el resultado de procesos físicos y/o químicos por los cuales el producto es generado, conservado o destruido.
- 25 El término « ésteres » tal y como se define incluye los ésteres no tóxicos convencionales formados, por ejemplo, a partir de ácidos inorgánicos u orgánicos. Ejemplos de tales ésteres de adición ácida comprenden, acetato, adipato, alginato, aspartato, benzoato, benzenesulfonato, bisulfato, butirato, citrato, canforato, canfosulfonato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodécilsulfato, érucato, étanesulfonato, ferulato, fumarato, glucoheptanoato, glicerofosfato, hémisulfato, heptanoato, hexanoato, clorhidrato, bromhidrato, iodhidrato, 2-hidroxiéthanesulfonato, lactato, maleato, metanesulfonato, 2-naftalenesulfonato, nicotinato, oxalato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fénilpropionato, picrato, pivalato, propionato, succinato, tartrato, tiocianato, tosilato, undécanoato y el valerato.
- 30 El tipo de esterificación puede en su mayor parte determinar la actividad biológica del compuesto de *simmondsina* tal y como se define aquí.
- 35 El término « ésteres » tal y como esta utilizado aquí pretende incluir ésteres, como se definió anteriormente, que pueden ser aislados o derivados de la planta de joboba. Debe entenderse que este término también incluye ésteres que pueden ser sintetizados químicamente usando técnicas que se conocen en el arte.
- Los ejemplos de ésteres según la patente incluyen, pero sin límite alguno, el ferulato de diméthylsimmondsina, ferulato de desméthylsimmondsina y el ferulato de didesméthylsimmondsina.
- 40 Para uso terapéutico, las "sales" de compuestos de fórmula (I) son aquellas en que el equilibrio es aceptable farmacéuticamente o fisiológicamente. Sin embargo, sales con un equilibrio farmacéuticamente inaceptable también pueden encontrar un uso, por ejemplo en la preparación o purificación de un compuesto farmacéuticamente aceptable de fórmula (I). Todas las sales que sean o no sean farmacéuticamente aceptables se incluyen aquí.
- 45 Las formas de sales de adición farmacéuticamente aceptables o tolerables fisiológicamente cuyos compuestos utilizados en la patente presente sean capaces de formar, pueden ser preparadas de manera conveniente con ácidos apropiados, tales como, por ejemplo, los ácidos inorgánicos ácidos hidrohálicos, por ejemplo, clorhídrico o ácido bromhídrico, ácidos sulfúrico, nítrico, fosfóricos y similares, o como ácidos orgánicos, por ejemplo ácido acético, propiónico, hidroxiaacético, láctico, ácido pirúvico, oxálico, malónico, succínico, fumárico, málico, tartárico, cítrico, hidracida, metansulfónico, ethanesulfónico, ácido de benceno sulfónico, p-toluensulfónico, ciclamino, ácido salicílico, p-aminosalicílico, pamoato y similares.
- 50 Por el contrario, se pueden convertir esas formas de sales de adición de ácido por tratamiento con una base apropiada en forma de base libre.
- Los compuestos de fórmula (I) que contienen un grupo ácido pueden convertirse también en su forma de sal de metal no tóxica o de aminas por tratamiento con bases orgánicas e inorgánicas adecuadas. Las formas de sales de

bases apropiadas incluyen, por ejemplo, sales de amonio, álcalis y sales de alcalinotérreos de metales, por ejemplo, sales de litio, sodio, potasio, magnesio, calcio y similares, las sales con bases orgánicas, por ejemplo las sales de benzatina, N-metil, de D-glucamina, de hidrabamina y sales con aminoácidos, como por ejemplo, arginina, lisina y similares.

- 5 Por el contrario, estas formas de adición de sales básicas se pueden convertir por tratamiento con un ácido apropiado en forma de ácido libre.

El término "sales" también incluye los hidratos y las formas de compuestos de adición de solventes utilizados en la presente patente que son capaces de formar. Los ejemplos de tales formas son, por ejemplo, hidratos, alcóxidos y similares.

- 10 El término "esencialmente pura" significa pureza de más de 80 y preferiblemente de más de 90 y todavía más preferiblemente de más de 99.

Siempre que el término "sustituido" se utilice aquí, se supone que indica que uno o más átomos de hidrógeno en el átomo en la expresión que utilice "sustituido" se sustituirán por una selección del grupo especificado, siempre que no se sobrepase el valencia normal del átomo indicado, y que tendrá como resultado la sustitución de un compuesto químicamente estable, es decir, un compuesto que sea suficientemente robusto como para sobrevivir aisladamente hasta un grado de pureza útil a partir de una mezcla de reacción y formulación de un agente terapéutico.

- 15

Tal y como se utilicen aquí los términos, el "halo" o "halógeno" como un grupo o parte de un grupo, son genéricos para flúor, cloro, bromo o yodo.

- 20 El término "alquilo", solo o en combinación, expresa radicales hidrocarbonatos lineales o ramificados con aproximadamente de 1 a 10 átomos de carbono, preferentemente de 1 a 8 átomos de carbono, más preferentemente de 1 a 6 átomos de carbono. Los ejemplos de estos radicales incluyen metilo, etilo, n-propil, el isopropílico, n-butilo, isobutilo, butilo-seco, terc-butilo 2 - métilbutilo, pentilo, isoamilo, el 3 de hexilo - métilpentilo, el octilo y similares.

- 25 El término "alqueno", solo o en combinación, define radicales de hidrocarbonatos de cadena lineal o ramificada que contienen de 2 a aproximadamente 30 átomos de carbono, de preferencia de 2 a 18 átomos de carbono, de preferencia de 2 a 8 átomos de carbono, más preferentemente de 2 a 6 átomos de carbono que contienen al menos una doble relación, como, por ejemplo el etenilo, el propenilo, butenilo, pentenilo, el hexano y similares.

- 30 El término "alqueno", solo o en combinación, define directamente radicales de hidrocarbonatos de cadena lineal o ramificada con 2 a 10 átomos de carbono que contienen un enlace triple, más preferentemente 2 a aproximadamente 6 átomos de carbono. Ejemplos de radicales alqueno incluyen etanol, propanol, (el propargilo), butanol, pentanol, hexano y similares.

- 35 El término "cicloalquilo", solo o en combinación, significa un radical alquilo monocíclico, bicíclico o policíclico saturado o parcialmente saturado en el que cada fracción cíclica contiene aproximadamente de 3 a aproximadamente 8 átomos de carbono, preferiblemente alrededor de 3 a 7 átomos de carbono. Los ejemplos de radicales cicloalquilo monocíclicos incluyen ciclopropilo, ciclobutano, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptano, ciclooctilo y similares. Ejemplos de radicales cicloalquilo policíclicos incluyen décahidronaftaleno, biciclo (5.4.0) undécil, adamantino y similares.

- 40 El término "cicloalquilalquilo" significa un radical alquilo tal y como se define aquí, en el que al menos un átomo de hidrógeno en el radical alquilo se sustituirá por un cicloalquilo radical tal y como se define. Los ejemplos de tal cicloalquilalquilo radicales incluyen el ciclopropilmetanol, el ciclobutilmetanol, el ciclopentilmetanol, ciclohexilmétanol, 1-ciclopentilétileno, 1-ciclohexilétileno 2 - ciclopentilétileno, 2 - ciclohexilétileno, ciclobutilpropileno, ciclopentilpropil, 3 - ciclopentilbutil, el ciclohexilbutil y similares.

- 45 El término "arilo", solo o en combinación pretende incluir fenol y naftol: ambos pueden eventualmente ser sustituidos por uno o más sustituyentes seleccionados independientemente del alquilo, alquoxi, halógeno, hidroxilo, amino, el nitro, el ciano, el haloalquilo, el carboxilo, el alcóxicarbonilo, el cicloalquilo, el Het1, el almidón, opcionalmente mono aminocarbonilo o disustituidos, metiltilio, métilsulfato y fenol opcionalmente sustituidos por uno o más sustituyentes seleccionados de alquilo en C1 a C6, el alquiloxy en C1 a C6, halógeno, hidroxilo, opcionalmente mono amino o disustituido, el nitro, el ciano, el haloalquilo en C1 a C6, carboxilo, el alcóxicarbonilo en C1 a C6, el cicloalquilo en C3 a C7, el Het1, el aminocarbonilo opcionalmente mono o disustituido, el metiltilio y el métilsulfato; Los sustituyentes opcionales en función amino se seleccionan independientemente del alquilo, el alquiloxy, el Het1, el alquilo Het1, el oxi, el Het1, el Het1 oxialquilo, el fenol, el féniloxi, el féniloxilquilo, el fenialquilo, el alquiloxicarbonilamino, los aminoácidos y el aminoalquilo, cada uno de los grupos amino opcionalmente pueden ser mono o, cuando sea posible, disustituidos por el alquilo. Ejemplos de arilo incluyen fenol, p-tolilo, 4 - metoxifenol, -(tert-butoxi) fenol 4, 3-metil-4 - metoxifenol, o4 - fluorofenol, 4 - clorofenol, 3 - nitrofenol, 3 - aminophenyldiphenylphosphinite, 3 - acetamidophenyl, 4 - acetamidophenyl, 2-metil-3 - acetamidophenyl, 2-metil-3 - aminophenyldiphenylphosphinite, 3-metil-4 - aminophenyldiphenylphosphinite, 2-amino-3 - metil, 2, 4-dimetil-3-aminophenyldiphenylphosphinite 4 -

- 55

hidroxifenol, 3-metil-4 - hidroxifenil, 1-naftol, 2 - naftil3-amino-1 - naftol, 2-metil-3-amino-1 - naftol, el 6-amino-2 - naftol, 4, 6-dimethoxy-2-naftol y similares.

5 El término "aralquilo", solo o en combinación, significa un alquilo tal y como se define aquí, en el que un átomo de hidrógeno de alquilo se sustituirá por un arilo tal y como se define. Los ejemplos de los radicales aralquilos incluyen bencilo, phenethyl, dibenzylméthyle, méthylphénylméthyle, 3-(2-naphtyl)-butilo y similares.

Como se utilizan aquí, los términos "oxo" o "O" forman un átomo de carbono del carbonilo fracción a la que están conectados.

Los términos "formil" o "-CHO" son una fracción aldehído, el átomo C se enlaza al átomo de carbono al que está conectado.

10 Como se utilizan aquí, los términos "carboxilo" o "-COOH" son una fracción ácida, el átomo de carbono se vincula con el átomo de carbono al que está conectado.

15 El término "haloalquilo", solo o en combinación, significa un radical alquilo con el significado definido anteriormente, en el que uno o más hidrógenos son reemplazados por un halógeno, preferentemente de los átomos de cloro o flúor, más preferentemente átomos de flúor. Ejemplos de tal haloalquilo radicales incluyen el clorometil, 1-bromometil, fluoromethyl, difluoromethyl, trifluorometil, 1,1,1-trifluoroéthyle y similares.

Los términos "alquoxi" o "alquiloxi", solos o en combinación, significan un éter radical alquilo, en el cual el alquilo es definido anteriormente. Ejemplos de radicales de éter de alquilo apropiado incluyen el metoxilo, etoxilo, n-propoxilo, 4-och(CH₃)₂, n-Butoxilo, iso-Butoxilo, Butoxilo seco, terc-Butoxilo, el hexanoxilo y similares.

20 Los términos "alkanoyl" o "alkylcarbonyle", sólo o en combinación, significan un radical acilo derivado de un ácido alcanecarboxylique, cuyos ejemplos incluyen acetilo, propionil, butyryl, valerico, 4 - methylvalerico y similares.

El término « alkylamino » significa un radical amino alquilo, en el cual el término « alquilo » viene definido anteriormente. Ejemplos de radicales alquilamino incluyen el méthylamino (NHCH₃), el éthylamino (NHCH₂CH₃), el n-propylamino, el isopropylamino, el n-butylamino, el isobutylamino, el sec-butylamino, el tert-butylamino, el n-hexylamino y similares.

25 El término "alkyltio" significa un radical tioéter alquilo, en que el término "alquilo" es como se definió anteriormente. Los ejemplos de radicales alkyltio incluyen methyltio (SCH₃), ethyltio (SCH₂CH₃), n-propyltio, isopropyltio, n-butyltio, el isobutyltio, butyltio-seco, tert-butyltio, n-hexyltio y similares.

30 El término "aminoalcanoyle" significa un derivado de un grupo de acilo de aminoácido alquilolcarboxílico sustituido, en el cual puede ser el grupo amino, un grupo amino primario, secundario o terciario que contenga sustituidos seleccionados entre los radicales alquilo, arilo, aralkyl, cicloalquilo, cycloalkylakyle y similares.

El término "aminocarbonyl", solo o en combinación, significa un grupo carbonilo (carbamoil) sustituido amino en el que el grupo amino puede ser un grupo amino primario, secundario o terciario que contenga seleccionados entre los radicales alquilo, arilo, aralkyl, cycloalkyl, cycloalkylakyle y similares.

35 El término "aralcanoyle" significa un radical acilo derivado de ácido alcanecarboxylique arilo sustituido como el phenylacetyl, 3 - phénylpropionyle (hydrocinnamoyle), 4 - phénylbutyryle, (2-naftil) acetil, 4 - chlorohydrocinnamoyle 4 - aminohydrocinnamoyle 4 - méthoxyhydrocinnamoyle y similares.

El término "aralcoxy" significa un alkoxy como se definió anteriormente, en el que un átomo de hidrógeno de arilo se sustituirá por un arilo definido anteriormente. Ejemplos de radical aralcoxy 2-phényléthoxy, 2-fenil-1 - propoxy y similares.

40 El término "aralcoxycarbonyle", solo o en combinación, significa una forma radical aralkyl-O-C (O) - en la que el término "aralkyl" se define anteriormente. Ejemplos de aralcoxycarbonyle radical son el benciloxicarbonil y 4-méthoxyphénylméthoxycarbonyle.

45 El término "aroyl" significa un radical acilo derivado de un ácido arylcarboxílico, arilo con el significado anterior. Ejemplos de dichos radicales de ácido arylcarboxílico incluyen ácido benzoico o ácido naftoico sustituido o no como el benzoilo, 4 - chlorobenzoyle, 4 - carboxybenzoyle, benzoilo de 4-(benzyloxycarbonyl), 1-naphtoyle, 2-naphtoyle - 6-carboxilo-2 - naphtoyle, 6, (benzyloxycarbonyl)-2 naphtoyle, 3-hidroxi-2 - naphtoyle, 3-(benzyloxyformamidol), naphtoyle - 2-naphtoyle y similares.

50 El término "arylaminoalkyle" significa un alquilo tal y como se define aquí, en el que un átomo de hidrógeno de alquilo se sustituye por un arylamino tal como se define. Ejemplos de radicales de arylaminoalkyle incluyen phénylaminoéthyle, 4-(3-méthoxyphénylamino)-1-butilo y similares.

El término "aryloxyalcoxy" significa un alkoxy tal y como se define aquí, en el que un átomo de hidrógeno de alquilo se sustituye por un aryloxy tal y como se define. Ejemplos de radicales (aryloxy) alkoxy incluyen 2-phénoxyéthoxy, e 4-(3-aminophénoxy)-1-Butoxi y similares.

5 El término "cycloalkylalcoxycarbonyle" significa un grupo acilo derivado del ácido cycloalkylalcoxycarboxylique de fórmula cycloalkylalkyl-O-COOH; cycloalkylalkyle esta definido anteriormente.

10 El término "cycloalkylcarbonyle" significa un grupo acilo derivado de un ácido cycloalcanecarboxylique monocyclic como el cyclopropylcarbonyle, el cyclohexylcarbonyle, el adamantylcarbonyle y similares o de un ácido cycloalcanecarboxylique monocíclico benzo fusionado que opcionalmente se sustituye por uno o varios sustituyentes seleccionados entre los cuales el alquilo, alkoxy, halógeno, hidroxilo, amino, el nitro, el ciano, el haloalkyle, el carboxilo, el alcoxycarbonyle, el cycloalkyl, el hétérocycloalkyle, el acanoylamino, el almidón, mono amino sustituido por dialquilcuprato, el mono de almidón y dialquilcuprato sustituido y similares, tales como los 1.234-tétrahydro-2-naphtoyle, 2-acetamido-1, 2, 3, 4-tetrahydro-2-naphtoyle.

15 Usado anteriormente aquí, el término "uno o más" abarca la posibilidad de que todos los átomos C están disponibles, cuando es apropiado, para ser sustituidos, preferentemente por, uno, dos o tres. Cuando una variable, por ejemplo, el halógeno o el alquilo, aparece más de una vez en un componente, cada definición es independiente.

20 Un grupo especial de compuestos radica en los compuestos de la fórmula (I), en la cual R4 y R5 se seleccionan independientemente en el grupo que contiene oxo, hidrógeno, hidroxilo, alquilo, alquenilol, alcynyle, alkyloxy, alkyloxyalkyl, alkylthioalkyle, alkyloxycarbonyle, alkylthiocarbonyle, alkanoyl, alkylcarbonyloxyalkyle, arylcarbonyloxyalkyle, silyloxyalkyle, haloalkyle, hydroxyalkyl, carboxilo, acil, alcénylcarbonyle, alcynylcarbonyle, ciano, aminocarbonyl, aminoalcanoyle, aminoalkyl y en que R3, R2', R3', R4' y R6' se seleccionan independientemente en el grupo con un hidroxilo o éster definido anteriormente.

25 Otro grupo de compuesto particular radica en los compuestos de la fórmula (I), en la cual R4 y R5 son seleccionados independientemente del grupo que incluye el oxo, hidrógeno, hidroxilo, alquil, alkyloxy, alkyloxyalkyl, carboxilo y en que R3, R2', R3', R4' y R6' son seleccionados independientemente en el grupo que incluye un hidroxilo o éster, como se definió anteriormente. Preferiblemente, los compuestos son compuestos representados por la fórmula (I) y sus formas estereoisoméricas, sus mezclas racémicas, sus metabolitos, sus ésteres o sus sales, en la cual R4 y R5 son seleccionados independientemente del grupo que incluye el hidroxilo, alquilo o alkyloxy y en que R3, R2', R3', R4' y R6' son seleccionados independientemente en el grupo con un hidroxilo o éster, como se definió anteriormente.

30 Más preferentemente, los compuestos son compuestos representados por la fórmula (I) y sus formas estereoisoméricas, sus mezclas racémicas, sus metabolitos, sus ésteres o sus sales, donde R4 y R5 son seleccionados independientemente del grupo incluidos - OH o - COH3 y en que R3, R2', R3', R4' y R6' son seleccionados independientemente en el grupo con un hidroxilo o éster, como se definió anteriormente.

35 Preferiblemente, dicho éster, un erucato, un ferulato, un valerato o acetato y preferiblemente un ferulato. El ácido ferúlico aparece en 2 isómeros (cis/trans). Por lo tanto, en otro modo de logro favorito, dicho ferulato es un cis ferulato o trans ferulato.

40 En la variante, los compuestos son compuestos representados por la fórmula (I) y sus formas estereoisoméricas, sus mezclas racémicas, sus metabolitos, sus ésteres, sus sales, o R4 y R5 son OH y donde las formas R3, R2', R3', R4' y R6' son seleccionados independientemente en el grupo con un hidroxilo o éster, como se definió anteriormente.

Un compuesto especialmente preferido utilizado de acuerdo con la patente es representado por la fórmula (I), en el cual R4 y R5 son - OH y donde R3, R3', R4' y R6' son - OH. Dicho compuesto es denominado el 4, 5 - didesméthylsimmondsina.

45 En otro modo de aplicación especialmente preferida, el compuesto utilizado de acuerdo con la patente es representado por la fórmula (I), en la cual R4 y R5 son - OH, en la cual R3, R3', R4' y R6' son - OH y donde R2' es un ferulato. Dicho compuesto es denominado el 4, 5-didesméthylsimmondsina-2'-ferulate.

50 En la variante, los compuestos están representados por la fórmula (I), en la que R4 es - OCH3 y R5 es - OH y en la cual R3, R2', R3', R4' y R6' son seleccionados independientemente en el grupo con un hidroxilo o éster, como se definió anteriormente. En un modo particularmente preferido de realización, el compuesto que se utiliza de acuerdo con la patente y está representado por la fórmula (I), en la que R4 es - OCH3 y R5 es - OH y en la cual R3, R2', R3', R4' y R6' son - OH. Dicho componente es denominado 5-desméthylsimmondsina.

En otro modo de aplicación especialmente preferida, el compuesto utilizado de acuerdo con la patente es representado por la fórmula (I), en la cual R4 es - OCH3 y R5 - OH, en la cual R3, R3', R4' y R6' son - OH y en la que R2' es un ferulato. Se denomina dicho compuesto 5-desméthylsimmondsina-2'-ferulate.

Más preferentemente, los compuestos están representados por la fórmula (I), en la cual R4 es - OH y R5 - OCH3 y donde R3, R2' 'R3,' R4' y R6' son seleccionados independientemente en el grupo con un hidroxilo o éster, como se definió anteriormente. En un modo particularmente preferido de realización, el compuesto utilizado por el presente invento está representado por la fórmula (I), en que es R4 - OH y R5 - OCH3 y en que R3, R2' 'R3,' R4' y R6' son - OH. Dicho compuesto se llama 4-desméthylsimmondsina.

5

En cualquier otro modo de logro especialmente preferido, el compuesto utilizado en la patente es representado por la fórmula (I), en que R4 es - OH y R5 - OCH3 en que R3, R3', R4' y R6' son - OH y donde R2' es un ferulato. Dicho compuesto se denomina 4-desméthylsimmondsina-2'-ferulato.

Otros compuestos preferidos están representados por la fórmula (I), en la cual R4 y R5 son - OCH3 y donde R3, R2' 'R3,' R4' y R6' son seleccionados independientemente en el grupo con un hidroxilo o éster, como se definió anteriormente.

10

En un modo particularmente preferido de realización, el compuesto que se utiliza de acuerdo con la patente está representado por la fórmula (I), en que R4 y R5 son - OCH3 y en que R3, R2' 'R3,' R4' y R6' son - OH. Dicho compuesto se llama el 4, 5 - diméthylsimmondsina. En otro modo de aplicación especialmente preferida, el compuesto utilizado de acuerdo con la patente es representado por la fórmula (I), R4 y R5 - OCH3, en que R3, R3', R4' y R6' son - OH y donde R2' es un ferulato. Dicho compuesto se denomina 4-diméthylsimmondsina-2'-ferulato.

15

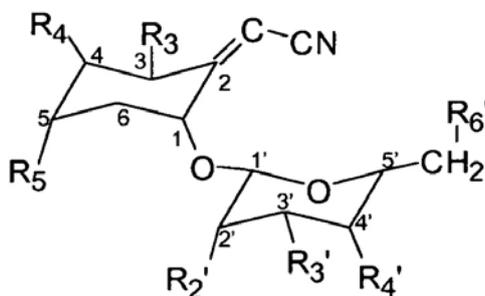
La tabla 1 proporciona ejemplos de diferentes compuestos utilizados de acuerdo con la patente, que se encuentran naturalmente en la jobaba.

Tabla 1

R ₄	R ₅	R ₃	R ₂ '	R ₃ '	R ₄ '	R ₆ '
-OH	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH
-OH	-OH	-OH	-ferulato	-OH	-OH	-OH
-OCH ₃	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH
-OCH ₃	-OH	-OH	-ferulato	-OH	-OH	-OH
-OH	-OCH ₃	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH
-OH	-OCH ₃	-OH	-ferulato	-OH	-OH	-OH
-OCH ₃	-OCH ₃	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH
-OCH ₃	-OCH ₃	-OH	-ferulato	-OH	-OH	-OH

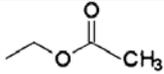
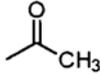
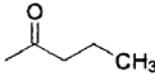
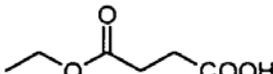
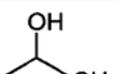
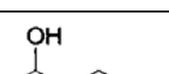
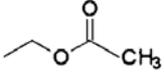
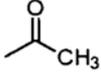
20

En la tabla 2 se muestran ejemplos adicionales no limitativos de compuestos con la fórmula General (I).



Formula (I)

Tabla 2

R ₄	R ₅	R ₃	R ₂ '	R ₃ '	R ₄ '	R ₆ '
-H	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH
-CH ₃	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH
-COOH	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH
-CH=CH ₂	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH
-CO ₂ CH ₃	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH
-CO ₂ H ₅	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH
-CO ₃ H ₇	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH
-CO ₂ C ₂ H ₅	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH
-CHO	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH
-CH ₂ OH	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH
-CHOHCH ₃	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH
-CH ₂ -CH ₂ -CH=CH ₂	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH
-COOCH ₃	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH
-CH ₂ OCH ₃	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH
-CH ₂ OCH ₂ CH ₃	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH
-CH ₂ SCH ₃	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH
	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH
	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH
	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH
	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH
	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH
	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH
-OH	-H	-OH	éster	-OH	-OH	-OH
-OH	-CH ₃	-OH	éster	-OH	-OH	-OH
-OH	-COOH	-OH	éster	-OH	-OH	-OH
-OH	-CH=CH ₂	-OH	éster	-OH	-OH	-OH
-OH	-CO ₂ CH ₃	-OH	éster	-OH	-OH	-OH
-OH	-OC ₂ H ₅	-OH	éster	-OH	-OH	-OH
-OH	-OC ₃ H ₇	-OH	éster	-OH	-OH	-OH
-OH	-CO ₂ C ₂ H ₅	-OH	éster	-OH	-OH	-OH
-OH	-CHO	-OH	éster	-OH	-OH	-OH
-OH	-CH ₂ OH	-OH	éster	-OH	-OH	-OH
-OH	-CHOHCH ₃	-OH	éster	-OH	-OH	-OH
-OH	-CH ₂ -CH ₂ -CH=CH ₂	-OH	éster	-OH	-OH	-OH
-OH	-COOCH ₃	-OH	éster	-OH	-OH	-OH
-OH	-CH ₂ OCH ₃	-OH	éster	-OH	-OH	-OH
-OH	-CH ₂ OCH ₂ CH ₃	-OH	éster	-OH	-OH	-OH
-OH	-CH ₂ SCH ₃	-OH	éster	-OH	-OH	-OH
-OH		-OH	éster	-OH	-OH	-OH
-OH		-OH	éster	-OH	-OH	-OH

-OH		-OH	éster	-OH	-OH	-OH
-OH		-OH	éster	-OH	-OH	-OH
-OH		-OH	éster	-OH	-OH	-OH
-OH		-OH	éster	-OH	-OH	-OH
-OH	-H	-OH	ferulato	-OH	-OH	-OH
-OH	-CH ₃	-OH	ferulato	-OH	-OH	-OH
-OH	-COOH	-OH	ferulato	-OH	-OH	-OH
-OH	-CH=CH ₂	-OH	ferulato	-OH	-OH	-OH
-OH	-CO ₂ CH ₃	-OH	ferulato	-OH	-OH	-OH
-OH	-OC ₂ H ₅	-OH	ferulato	-OH	-OH	-OH
-OH	-OC ₃ H ₇	-OH	ferulato	-OH	-OH	-OH
-OH	-CO ₂ C ₂ H ₅	-OH	ferulato	-OH	-OH	-OH
-OH	-CHO	-OH	ferulato	-OH	-OH	-OH
-OH	-CH ₂ OH	-OH	ferulato	-OH	-OH	-OH
-OH	-CHOHCH ₃	-OH	ferulato	-OH	-OH	-OH
-OH	-CH ₂ -CH ₂ -CH=CH ₂	-OH	ferulato	-OH	-OH	-OH
-OH	-COOCH ₃	-OH	ferulato	-OH	-OH	-OH
-OH	-CH ₂ OCH ₃	-OH	ferulato	-OH	-OH	-OH
-OH	-CH ₂ OCH ₂ CH ₃	-OH	ferulato	-OH	-OH	-OH
-OH	-CH ₂ SCH ₃	-OH	ferulato	-OH	-OH	-OH
-OH		-OH	ferulato	-OH	-OH	-OH
-OH		-OH	ferulato	-OH	-OH	-OH
-OH		-OH	ferulato	-OH	-OH	-OH
-OH		-OH	ferulato	-OH	-OH	-OH
-OH		-OH	ferulato	-OH	-OH	-OH
-OH		-OH	ferulato	-OH	-OH	-OH
-OH	-OH	-OH	ferulato	-OH	-OH	-OH
-OCH ₃	-OH	-OH	ferulato	-OH	-OH	-OH
-OH	-OCH ₃	-OH	ferulato	-OH	-OH	-OH
-OCH ₃	-OCH ₃	-OH	ferulato	-OH	-OH	-OH
-CH ₃	-OH	-OH	ferulato	-OH	-OH	-OH
-COOH	-OH	-OH	ferulato	-OH	-OH	-OH
-CH ₂ OH	-OH	-OH	ferulato	-OH	-OH	-OH
-OC ₂ H ₅	-OH	-OH	ferulato	-OH	-OH	-OH
-CH ₃	-OCH ₃	-OH	ferulato	-OH	-OH	-OH
-COOH	-OCH ₃	-OH	ferulato	-OH	-OH	-OH
-CH ₂ OH	-OCH ₃	-OH	ferulato	-OH	-OH	-OH

ES 2 376 054 T3

-OC ₂ H ₅	-OCH ₃	-OH	éster	-OH	-OH	-OH
-OH	-CH ₃	-OH	éster	-OH	-OH	-OH
-OH	-COOH	-OH	éster	-OH	-OH	-OH
-OH	-CH ₂ OH	-OH	éster	-OH	-OH	-OH
-OH	-OC ₂ H ₅	-OH	éster	-OH	-OH	-OH
-OCH ₃	-CH ₃	-OH	éster	-OH	-OH	-OH
-OCH ₃	-COOH	-OH	éster	-OH	-OH	-OH
-OCH ₃	-CH ₂ OH	-OH	éster	-OH	-OH	-OH
-OCH ₃	-OC ₂ H ₅	-OH	éster	-OH	-OH	-OH
-CH ₃	-CH ₃	-OH	éster	-OH	-OH	-OH
-COOH	-COOH	-OH	éster	-OH	-OH	-OH
-CH ₂ OH	CH ₂ OH	-OH	éster	-OH	-OH	-OH
-OC ₂ H ₅	-OC ₂ H ₅	-OH	éster	-OH	-OH	-OH
-OH	-OH	-OH	ferulato	-OH	ferulato	-OH
-OCH ₃	-OH	-OH	ferulato	-OH	ferulato	-OH
-OH	-OCH ₃	-OH	ferulato	-OH	ferulato	-OH
-OCH ₃	-OCH ₃	-OH	ferulato	-OH	ferulato	-OH
-CH ₃	-OH	-OH	ferulato	-OH	ferulato	-OH
-COOH	-OH	-OH	ferulato	-OH	ferulato	-OH
-CH ₂ OH	-OH	-OH	ferulato	-OH	ferulato	-OH
-OC ₂ H ₅	-OH	-OH	ferulato	-OH	ferulato	-OH
-CH ₃	-OCH ₃	-OH	ferulato	-OH	ferulato	-OH
-COOH	-OCH ₃	-OH	ferulato	-OH	ferulato	-OH
-CH ₂ OH	-OCH ₃	-OH	ferulato	-OH	ferulato	-OH
-OC ₂ H ₅	-OCH ₃	-OH	ferulato	-OH	ferulato	-OH
-OH	-CH ₃	-OH	éster	-OH	éster	-OH
-OH	-COOH	-OH	éster	-OH	éster	-OH
-OH	-CH ₂ OH	-OH	éster	-OH	éster	-OH
-OH	-OC ₂ H ₅	-OH	éster	-OH	éster	-OH
-OCH ₃	-CH ₃	-OH	éster	-OH	éster	-OH
-OCH ₃	-COOH	-OH	éster	-OH	éster	-OH
-OCH ₃	-CH ₂ OH	-OH	éster	-OH	éster	-OH
-OCH ₃	-OC ₂ H ₅	-OH	éster	-OH	éster	-OH
-CH ₃	-CH ₃	-OH	éster	-OH	éster	-OH
-COOH	-COOH	-OH	éster	-OH	éster	-OH
-CH ₂ OH	-CH ₂ OH	-OH	éster	-OH	éster	-OH
-OC ₂ H ₅	-OC ₂ H ₅	-OH	éster	-OH	éster	-OH
-OH	-OH	-OH	ferulato	-OH	ferulato	-OH
-OCH ₃	-OH	-OH	ferulato	-OH	ferulato	-OH
-OH	-OCH ₃	-OH	ferulato	-OH	ferulato	-OH
-OCH ₃	-OCH ₃	-OH	ferulato	-OH	ferulato	-OH
-CH ₃	-OH	-OH	ferulato	-OH	ferulato	-OH
-COOH	-OH	-OH	ferulato	-OH	ferulato	-OH
-CH ₂ OH	-OH	-OH	ferulato	-OH	ferulato	-OH
-OC ₂ H ₅	-OH	-OH	ferulato	-OH	ferulato	-OH
-CH ₃	-OCH ₃	-OH	ferulato	-OH	ferulato	-OH
-COOH	-OCH ₃	-OH	ferulato	-OH	ferulato	-OH
-CH ₂ OH	-OCH ₃	-OH	ferulato	-OH	ferulato	-OH
-OC ₂ H ₅	-OCH ₃	-OH	ferulato	-OH	ferulato	-OH
-OH	-CH ₃	-OH	éster	éster	éster	-OH
-OH	-COOH	-OH	éster	éster	éster	-OH
-OH	-CH ₂ OH	-OH	éster	éster	éster	-OH
-OH	-OC ₂ H ₅	-OH	éster	éster	éster	-OH
-OCH ₃	-CH ₃	-OH	éster	éster	éster	-OH
-OCH ₃	-COOH	-OH	éster	éster	éster	-OH
-OCH ₃	-CH ₂ OH	-OH	éster	éster	éster	-OH
-OCH ₃	-OC ₂ H ₅	-OH	éster	éster	éster	-OH
-CH ₃	-CH ₃	-OH	éster	éster	éster	-OH
-COOH	-COOH	-OH	éster	éster	éster	-OH
-CH ₂ OH	-CH ₂ OH	-OH	éster	éster	éster	-OH
-OC ₂ H ₅	-OC ₂ H ₅	-OH	éster	éster	éster	-OH

La simmondsina está seleccionada en el grupo compuesto por la diméthylsimmondsina, el desméthylsimmondsina, la didesméthylsimmondsina, sus formas estereoisoméricas, sus mezclas racémicas, sus metabolitos, sus ésteres o sus sales o todas sus mezclas.

5 En un modo de aplicación más preferido, la simmondsina utilizada de acuerdo con la patente es seleccionada en el grupo que incluye 4-desméthylsimmondsina, 5 desméthylsimmondsina 4, 5 - didesméthylsimmondsine, 4, 5 - diméthylsimmondsine, sus formas estereoisoméricas, sus mezclas racémicas, sus metabolitos, sus ésteres o sus sales o sus mezclas.

10 De cualquier otro modo de realización preferida, las simmondsinas utilizadas de acuerdo con la patente son seleccionadas en el grupo que incluye 4-desméthylsimmondsina, 5 desméthylsimmondsina, 4, 5 - didesméthylsimmondsina, 4, 5-diméthylsimmondsina, 4-desméthylsimmondsina-2'-ferulato, 5-desméthylsimmondsina-2' ferulato, 4, 5-didesméthylsimmondsina-2' ferulato, 4, 5-diméthylsimmondsina-2'-ferulato, o todas sus mezclas.

15 Los compuestos con la fórmula general (I) tienen preferentemente un carácter importante apolar. La polaridad puede determinar en gran medida la actividad biológica de compuestos simmondsinicos. En particular, los compuestos que tienen una formula general (I) y con carácter apolar pueden obtenerse facilitando ésteres de compuestos descritos aquí.

20 Se ha descubierto de manera sorprendente que los componentes activos como vienen definidos aquí y, en particular, los compuestos con la fórmula (I), como está definida aquí, tienen un efecto de inhibición de la angiogénesis potente. Los términos "actividad anti-angiogénesis" o "de inhibición de la angiogénesis" se definen aquí como la capacidad de compuestos tal y como se definen a inhibir, prevenir, significativamente, reducir la formación o excrecencia de los vasos sanguíneos o linfáticos o destruir estos vasos durante la formación o excrecencia *in vitro* e *in vivo*.

25 De cualquier otro modo de realización, los componentes activos definidos aquí y, en particular, los compuestos con la fórmula (I) tal y como se define aquí, tienen un efecto de inhibición de la angiogénesis específica en uno o varios pasos concretos en el proceso de la misma. El proceso completo de la angiogénesis consta de diferentes pasos. Las células endoteliales, las células que forman las paredes de los vasos sanguíneos, son la fuente de nuevos vasos sanguíneos y tienen una considerable capacidad en dividirse y en desplazarse. La construcción de una red vascular requiere diferentes pasos secuenciales incluyendo:

30

1. la liberación de proteasas a partir de células endoteliales "activadas".
2. la degradación de la membrana basal que rodea el vaso existente
3. la migración de las células endoteliales en el espacio intersticial
4. la proliferación de células endoteliales
- 35 5. la formación de tubos y a posteriori formación de lumen
6. la generación de una nueva membrana basal con la concentración de pericitos
7. la fusión de los vasos recién formados
8. el principio de la circulación sanguínea.

40 De manera beneficiosa, los compuestos diferentes como se definen aquí muestran diferencias cuantitativas y cualitativas en algunos de los pasos involucrados en el proceso del angiogénesis.

Por lo tanto, también ha sido demostrado que los componentes activos, y en particular los componentes activos con la fórmula (I) tal y como se define aquí tienen actividad antitumoral.

45 Además, fueron descubiertas, de manera sorprendente que los componentes activos, y en particular los compuestos con la fórmula (I) tal y como se define aquí tienen bajos niveles de citotoxicidad. Esto significa que estos compuestos no inducen efectos agresivos importantes en las células, tejidos u órganos sanos. Se ha demostrado que los compuestos aquí definidos no presentan efectos citotóxicos en tejidos sanos *in vitro* (ver ejemplos).

Otra característica sorprendente de los componentes activos definidos aquí radica en el hecho de que los componentes no presentan ninguna actividad de tipo estrógeno significativa (ver ejemplo 7).

A la luz de estas interesantes propiedades, los componentes activos aquí definidos son especialmente útiles en aplicaciones médicas. Por lo tanto, se reveló el uso de un componente activo derivado de la jojoba aquí definido para la fabricación de un medicamento para la inhibición de la angiogénesis. En particular, el uso de una simmondsina, definida aquí, sus formas estereoisoméricas, sus mezclas racémicas, sus metabolitos, sus ésteres, sus sales, o sus mezclas para la fabricación de un medicamento destinado a la inhibición de la angiogénesis es revelada.

Las propiedades de inhibición de la angiogénesis de componentes activos aquí definidos son debidas a simmondsinas seleccionadas en el grupo formado por los 5 y 4-desméthylsimmondsina, diméthylsimmondsina y didesméthylsimmondsina y sus respectivos férulatos. Se ha demostrado que las propiedades de inhibición de estos compuestos no sólo pueden conseguirse después de una administración oral, pero también mediante el contacto directo con las células en desarrollo, como lo han revelado las pruebas *in vitro* (ver ejemplos). Además, los férulatos de diméthylsimmondsina tienen actividad inhibitoria significativa de la angiogénesis, que es superior a la actividad de la diméthylsimmondsina no sustituida.

Los términos "angiogénesis" o "néovascularización" se utilizan aquí como sinónimo y se refieren a la proliferación y la formación de nuevos vasos sanguíneos a partir de los vasos sanguíneos existentes. La formación de vasos sanguíneos es necesaria para el crecimiento de tejidos normales, el desarrollo de la placenta y del embrión, la curación de heridas, etc...

La angiogénesis también desempeña un papel importante en muchas enfermedades. La angiogénesis es también muy importante en el desarrollo de muchos tumores de colon, mama, endometrio, ovario, cérvix, próstata y otros tejidos. Dado que la presente patente propone compuestos útiles para la inhibición de la angiogénesis, estos compuestos también son particularmente apropiados en el tratamiento de enfermedades resultantes de una actividad de la angiogénesis no deseada o no controlada. La presente patente por lo tanto, propone el uso de un componente activo derivado de jojoba para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades relacionadas con la angiogénesis, como lo define la reivindicación. También se propone en presente patente el uso de una simmondsina, tal y como se definió anteriormente, o de sus formas estereoisoméricas, de sus mezclas racémicas, de sus metabolitos, de sus ésteres y de sus sales, o de sus mezclas para la fabricación de un medicamento en el tratamiento de enfermedades relacionadas con la angiogénesis, definido en la reivindicación. En un modo mejor de realización, dicha simmondsina se encuentra naturalmente en la jojoba y contenida en la harina o extracto de jojoba como lo define la reivindicación.

En un mejor modo de realización, dicha simmondsina, como se definió anteriormente, o sus formas estereoisoméricas, sus mezclas racémicas, sus metabolitos, sus ésteres o sus sales o sus mezclas, utilizadas para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades relacionadas con el angiogénesis se encuentra naturalmente en la jojoba o está contenido en la harina o un extracto de jojoba.

En cualquier otro modo de mejor realización, dicha simmondsina es seleccionada en el grupo que incluye 4-desméthylsimmondsina, 5 desméthylsimmondsina, 4,5 - didesméthylsimmondsina, 4,5-diméthylsimmondsina, 4-desméthylsimmondsina-2'-ferulato, 5-desméthylsimmondsina- 2'ferulato, 4, 5-didesméthylsimmondsina-2' ferulato, 4, 5-diméthylsimmondsina-2'-ferulato y todas sus mezclas.

El término " enfermedades relacionadas con la angiogénesis " tal y como esta utilizado aquí se refiere a enfermedades en que la angiogénesis, tal como se define aquí, desempeña un papel crucial. Las enfermedades relacionadas con la angiogénesis estan seleccionadas en la lista no es exhaustiva presentada a continuación e incluyen el cáncer, los hemangiomas, la formación de placas aterosclerótica, enfermedades inflamatorias, artritis, psoriasis, preclampsia, fibrosis del hígado y riñones, algunas patologías derivadas de la diabetes, enfermedades del ojo en el que los vasos anormales proliferan y destruyen la visión, tales como retinopatía proliferativa, la degeneración macular diabética relacionadas con la edad, retinopatía diabética, degeneración macular, el glaucoma neovascular, rétrolentales fibroplasias, la vascularización retiniana, etc..

En otro modo de mejor realización, la patente se refiere al uso de un componente activo derivado de la jojoba para la fabricación de un medicamento en el tratamiento del cáncer, como se define en la reivindicación. La patente concierne en particular el uso de una simmondsina, como se define anteriormente, o de sus formas estereoisoméricas, de sus mezclas racémicas, de sus metabolitos, de sus ésteres o de sus sales, o de sus mezclas, para la fabricación de un medicamento destinado en el tratamiento del cáncer, como se define en la reivindicación.

Los cánceres que pueden ser tratados con compuestos aquí definidos incluyen, sin limitación alguna, tumores sólidos, o metástasis. Las metástasis son la forma de cáncer donde las células transformadas o malignas se desplazan y propagan el cáncer de un órgano a otro. El cáncer puede ser un cáncer de piel, mama, cerebro, carcinomas de cervix, carcinoma testicular, etc... En particular, los cánceres pueden incluir, sin limitación alguna, a los sistemas u órganos siguientes: corazón, pulmón, gastrointestinal, genitourinario, hígado, huesos, sistema nervioso, ginecología, hematológicas, piel y glándulas suprarrenales. En particular, los procesos aquí pueden utilizarse en el tratamiento del glioma, (schwannoma, glioblastoma, astrocitoma), melanoma, neuroblastoma, ferrocromocitoma, paraganglioma, meningioma, carcinoma corticosuprarrenal, cáncer de riñón, cáncer vascular de

diversos tipos, osteoblastos ostéocarcinoma, cáncer de la próstata, cáncer de ovario, leiomiomas uterinos, cáncer de las glándulas salivales, carcinoma de la coroides de plexo, cáncer de mama, cáncer de páncreas, cáncer de colon y leucemia mégarocaryoblastica.

5 El angiogénesis tiene un interés especial en la metástasis del cáncer tumorigénico. La producción capilar de *novo* es un acontecimiento crucial en el crecimiento y metástasis del tumor dado que las células de tumor sólido deben recibir el oxígeno y los nutrientes necesarios para sobrevivir y desarrollarse. En particular, el experto en la materia sabe que los tumores que dependen de la angiogénesis representan un gran número de cánceres existentes. De hecho, los tumores producen factores angiogenéticos para inducir la formación de nuevos vasos sanguíneos, (Folkman, 2002); Semin Oncol 29 (6 Suppl 16): 15-18). La inhibición del desarrollo de los resultados de los vasos
10 sanguíneos se traduce por la restricción del consumo de energía en el tumor, causando una paralización de su desarrollo y por lo tanto, el comienzo de su regresión.

A la luz de los efectos de la angiogénesis en el desarrollo de cáncer, esta patente propone uso de compuestos con actividad anti-angiogénesis en el tratamiento de los cánceres de la angiogénesis dependiente según lo define la reivindicación. El término "cáncer angiogénesis dependiente" como esta usado aquí se refiere a cánceres en que la
15 angiogénesis juega un papel crucial y perjudicial. Por lo tanto, en un modo preferente de realización la presente patente se refiere al uso de un compuesto activo derivado de la jojoba aquí definido para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer de la angiogénesis dependiente como viene definido en la reivindicación. La patente se refiere en particular al uso de una simmondsina, como esta definido aquí, o sus formas estereoisoméricas, sus mezclas racémicas, sus metabolitos, sus ésteres o sus sales o sus mezclas, utilizadas para la
20 fabricación de un medicamento para el tratamiento de dependientes de la angiogénesis, como lo definen las reivindicaciones.

Estudios recientes también sugieren que los compuestos inhibidores de la angiogénesis son eficaces en el desarrollo de nuevos fármacos para el tratamiento de otras enfermedades en los cuales el crecimiento incontrolado de los vasos sanguíneos y la inflamación (sinovial) esta implicada al igual que la poliartritis reumatoide (Bodolay y
25 al., 2002), la psoriasis (Xia y al., 2003; Blood 20) y la neovascularización retiniana inducida por hipoxia (Takagi y al., 2003, Ophthalmol. Vis Sci. 44 (1): 393-402). Por lo tanto, considerables investigaciones están dirigidas a la obtención de un inhibidor de la angiogénesis útil (Van Hinsbergh y al., 1999, Ann. Oncol. 1999, 10 (Suppl 4): 60-63; O ' Reilly, 2003, métodos Mol. Biol. 223:599-634).

En cualquier otro modo de realización, la patente se refiere a la utilización de un componente activo derivado de la jojoba, definido aquí, para la fabricación de un medicamento en el tratamiento de la artritis, como lo definen las
30 reivindicaciones. La patente se refiere en particular al uso de una simmondsina, como se define anteriormente, o de sus formas estereoisoméricas, de sus mezclas racémicas, de sus metabolitos, de sus ésteres y de sus sales, o de sus mezclas, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la artritis, como lo definen las reivindicaciones. El término "artritis", como se utiliza aquí, supone abarcar todas las formas de inflamación e
35 incluye, pero sin limitación alguna, a la osteoartritis, la artritis reumatoide, la espondilitis anquilosante, la bursitis, la fibromialgia, la gota, la artritis infecciosa, la artritis reumatoide juvenil, la artritis psoriásica, reactiva, la esclerodermia, el lupus eritematoso, la artritis difundida (LED), la tendinitis, sinovitis, etc..

Además, según otro modo de realización, la patente se refiere a la utilización de un componente activo derivado de la jojoba, aquí definido, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la psoriasis, como lo definen
40 las reivindicaciones. La patente se refiere en particular al uso de una simmondsina, como se define anteriormente, o de sus formas estereoisoméricas, de sus mezclas racémicas, de sus metabolitos, de sus ésteres y de sus sales, o de sus mezclas, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la psoriasis, como lo definen las reivindicaciones. El término "psoriasis" se define como una enfermedad crónica de la piel caracterizada por una descamación e inflamación y se considera que abarca, como se utiliza aquí, todas las formas de psoriasis, incluso,
45 pero sin limitación alguna, la psoriasis en placas, la psoriasis en gota, la psoriasis pustulosa, la psoriasis invertida , la psoriasis erythrodermica, etc..

Puesto que la inhibición de la angiogénesis tiene una función en el desarrollo de la placenta y el embrión, estos componentes activos también podrían utilizarse como anticonceptivos y el aborto. Por lo tanto, el uso de un
50 componente activo derivado de la jojoba aquí definido para la fabricación de un medicamento con efecto anticonceptivo o abortivo podría contemplarse. La utilización de una simmondsina, como se define anteriormente, o sus formas estereoisoméricas, de sus mezclas racémicas, de sus metabolitos, de sus ésteres y de sus sales, o sus mezclas, para la fabricación de un medicamento con efecto anticonceptivo o abortivo puede igualmente ser considerado.

Además, se informó que el VEGF, que desempeña un papel clave en la angiogénesis, participa en la espermatogénesis. Por lo tanto, los componentes activos definidos aquí pueden también utilizarse para controlar la
55 fertilidad masculina. Por lo tanto, el uso de un componente activo derivado de la jojoba, aquí definido, para la fabricación de un medicamento para el control de la fertilidad masculina podría verse. En particular, puede considerarse el uso de una simmondsina, como se define anteriormente, o de sus formas estereoisoméricas, de sus

mezclas racémicas, de sus metabolitos, de sus ésteres o de sus sales, o de sus mezclas, para la fabricación de un medicamento destinado a controlar la fertilidad masculina.

El uso de una simmondsina con la fórmula general (I), como se define anteriormente, como un medicamento para el tratamiento de enfermedades relacionadas con la angiogénesis, definida aquí, es divulgado. En particular, el uso de la 4-desméthylsimmondsina, de la 5-desméthylsimmondsina, de la 4,5-didesméthylsimmondsina, 4,5-diméthylsimmondsina, de la 4-desméthylsimmondsina-2'-ferulato, de 5-desméthylsimmondsina-2' ferulato, del 4, 5-didesméthylsimmondsina-2'-ferulato, del 4, 5-diméthylsimmondsina-2' ferulato y de sus mezclas como un medicamento para el tratamiento de enfermedades relacionadas con la angiogénesis, definida aquí, es divulgado.

Además, un extracto o harina de jobjoba para su uso como un medicamento para el tratamiento de enfermedades relacionadas con la angiogénesis, definido aquí es divulgado.

Un componente racémico, como esta definido aquí, y en particular una simmondsina, definida anteriormente, o sus formas etereoisoméricas, sus mezclas racémicas, sus metabolitos, sus ésteres o sus sales o sus mezclas, pueden aplicarse a animales, preferiblemente mamíferos y especialmente humanos como productos farmacéuticos en las mezclas entre sí o en forma de preparados farmacéuticos.

Por lo tanto, en cualquier otro modo de realización, una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de un componente activo derivado de la jobjoba, definido aquí, y un excipiente farmacéutico aceptable, podrían estar considerados. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de una simmondsina, como se define anteriormente, o de sus formas estereoisoméricas, de sus mezclas racémicas, de sus metabolitos, de sus ésteres y de sus sales, o de sus mezclas y un excipiente farmacéutico aceptable también podrían considerarse.

Pueden considerarse las composiciones farmacéuticas que contengan como excipientes de ingredientes activos y auxiliares farmacéuticamente inofensivos habituales una dosis efectiva de al menos uno de los componentes activos como se define anteriormente. La composición farmacéutica en particular puede incluir harina o extracto de jobjoba o todos los compuestos anteriores con la fórmula (I) general y sus formas estereoisoméricas, sus mezclas racémicas, sus metabolitos, sus sales o sus ésteres, o sus mezclas y cualquier otra mezcla. La composición farmacéutica puede de este modo incluir mezclas de harina de jobjoba y un compuesto de fórmula (I), de harina de jobjoba y de sales o ésteres de un compuesto de fórmula (I), etc. o cualquier otra combinación.

En otro modo de realización, una composición farmacéutica que incluya una cantidad terapéuticamente efectiva de una simmondsina, como se define anteriormente, o de sus formas estereoisoméricas, de sus mezclas racémicas, de sus metabolitos, de sus ésteres y de sus sales o de sus mezclas, puede considerarse un excipiente farmacéutico aceptable.

El término "cantidad terapéuticamente efectiva" utilizado aquí significa la cantidad de componente(s) activo(s) o agente farmacéutico que induce la respuesta biológica o medicinal en un tejido, un sistema, un animal o un ser humano que es estudiado por un investigador, un veterinario, un médico u otros médicos, incluyendo el alivio de los síntomas de la enfermedad con el tratamiento.

Los preparados farmacéuticos contienen normalmente de 0.1 a 90 % en peso de componentes activos definidos aquí. Las preparaciones farmacéuticas pueden ser preparadas de manera conocida como tal por el experto en la materia. Con este fin, al menos un componente activo, como se define aquí, junto con uno o más excipientes auxiliares farmacéuticos sólidos o líquidos y, si lo desea, en asociación con otros componentes activos farmacéuticos se ensamblan en una forma de administración o forma farmacéutica adecuada que puede utilizarse como un fármaco en medicina humana o veterinaria.

El experto en la materia domina la base de su experiencia de los excipientes o auxiliares que son apropiados para la formulación farmacéutica deseada. Además de disolventes, agentes de formación de gel, bases para supositorios, tabletas de auxiliares y otros soportes de compuestos activos, antioxidantes, agentes de dispersión, emulsionantes, agentes antiespumantes, correctores del sabor, conservantes, solubilizantes, agentes para obtener un efecto de depósito, búferes de sustancias o colorantes también son útiles.

En el modo preferido de realización, la vía de administración de una composición farmacéutica es sin limitación una vía oral, tópica o una vía parenteral.

Las formas de administración especial de la composición farmacéutica pueden ser, por ejemplo, soluciones, suspensiones, emulsiones, cremas, tabletas, cápsulas, aerosoles nasales, liposomas o micro-frascos, incluyendo composiciones ingeribles por vía oral o estériles inyectables, como por ejemplo suspensiones acuosas u oleaginosas estériles inyectables o supositorios. La forma preferida de composición propuesta es la forma sólida seca, que incluye cápsulas, gránulos, tabletas, píldoras, bolo y polvos. El fuerte apoyo puede incluir uno o más excipientes, por ejemplo, lactosa, cargas, desintegradores, carpetas, por ejemplo, celulosa, carboximetilcelulosa o almidón o agentes anti-adherentes, por ejemplo estearato de magnesio, para evitar que las tabletas se adhieran a

sus envases de pastillas. Las tabletas, píldoras y bolos pueden liberar rápidamente o proporcionar una liberación lenta del principio activo.

5 Las composiciones farmacéuticas pueden administrarse a los seres humanos o animales en rangos de dosis para cada componente en tales composiciones. El componente de la composición puede ser administrado de forma conjunta o por separado. Se interpretará, sin embargo, que un nivel de dosis y una frecuencia de administración específica para un paciente determinado, puedan variar y depender de la diversidad de factores, incluyendo la actividad de componente activo específico empleado, de la estabilidad metabólica y de la duración de la acción de este compuesto, de la edad, del peso, de la salud en general, del sexo, de la dieta, del modo y hora de administración, de la tasa de excreción, de la asociación de medicamentos, de la particular gravedad y de la terapia en curso del paciente.

10 Dicha composición farmacéutica puede formularse para aplicarse por vía oral a los seres humanos o animales. La composición farmacéutica por ejemplo puede aplicarse por vía oral para el tratamiento de tumores u otras enfermedades relacionadas con la angiogénesis por administración oral.

15 Preferiblemente, dicha composición farmacéutica está formulada para la administración oral e incluye harina de jojoba y preferiblemente en una concentración del 80% en peso o menos, preferiblemente en una concentración del 60% en peso o menos, más preferentemente en una concentración del 40% en peso o menos y más preferentemente en una concentración del 20% en peso o menos. Es evidente que la concentración depende de la actividad física de los adyuvantes en la composición, como por ejemplo los emulsionantes.

20 Dicha composición farmacéutica también puede formularse para la administración oral e incluye un extracto de harina de jojoba o sustancias que están aisladas que incluyan un simmondsina, como se define anteriormente, o sus formas estereoisoméricas, sus mezclas racémicas, sus metabolitos, sus ésteres o sus sales o sus mezclas, en una cantidad terapéutica efectiva y, preferiblemente, una concentración del 5% en peso o menos preferiblemente en una concentración del 3% en peso o menos y una concentración de 1% en peso o menos y todavía más preferentemente en una concentración de 0,15% en peso o menos. La cantidad terapéutica efectiva depende de la enfermedad a tratar y la competencia profesional del terapeuta.

25 La composición farmacéutica puede formularse también en la aplicación por vía parenteral a los seres humanos y animales. La composición farmacéutica puede aplicarse por vía parenteral para el tratamiento de tumores u otras enfermedades relacionadas con la angiogénesis accesible por administración parenteral.

30 Dicha composición farmacéutica está preferentemente formulada para una administración parenteral e incluye un extracto de harina de jojoba, o una simmondsina, tal y como se define anteriormente, o sus formas estereoisoméricas, sus mezclas racémicas, sus metabolitos, sus ésteres o sus sales o sus mezclas, en una cantidad terapéutica eficaz y, preferiblemente, en una concentración del 5% en peso o menos, preferiblemente en una concentración del 3% en peso o menos y una concentración de 1% en peso o menos y todavía más preferentemente en una concentración de 0,15% en peso o menos. La cantidad terapéutica eficaz depende de la enfermedad a tratar y la competencia profesional del terapeuta.

35 En la variante, la composición farmacéutica puede ser formulada para ser aplicada por vía tópica. La composición farmacéutica, por ejemplo, puede aplicarse por vía tópica para el tratamiento de tumores u otras enfermedades relacionadas con la angiogénesis accesible por aplicación tópica en la piel de humanos y animales.

40 Preferiblemente, dicha composición farmacéutica está formulada para una aplicación tópica sobre la piel e incluye un extracto de harina de jojoba, o sustancias aisladas que incluyen dicha simmondsina, definida anteriormente, o sus formas estereoisoméricas, sus mezclas racémicas, sus metabolitos, sus ésteres o sus sales o sus mezclas, en una cantidad terapéutica efectiva comprendida entre 0,1 y 10% en peso y preferiblemente entre 0,5 y 5% en peso. La cantidad terapéutica efectiva depende de la enfermedad a tratar y de la competencia profesional del terapeuta.

45 Debido a sus propiedades farmacológicas favorables, especialmente las propiedades de inhibición de la angiogénesis, los compuestos activos definidos aquí son útiles en el tratamiento de enfermedades en que la inhibición de la angiogénesis es necesaria y en el tratamiento de las personas que padecen una enfermedad relacionada con la misma.

50 Dicho componente activo, tal y como se define aquí, y en particular una simmondsina, definida anteriormente, o sus formas estereoisoméricas, sus mezclas racémicas, sus metabolitos, sus ésteres y sus sales o sus mezclas, pueden administrarse por vía oral, tópica, parenteral, es decir, incluyendo inyecciones subcutáneas, técnicas de inyección o perfusión intraesternal, intramuscular, intravenosa, inhalación con un aerosol, o por vía rectal, en formulaciones de unidades de dosificación que contienen medios, adyuvantes y convencionales no tóxicos. Se prefiere la administración oral. Por ejemplo, la administración oral puede consistir en una emulsión de harina de jojoba refinada un "batido".

55 El mismo componente activo, tal y como se define aquí, y en particular una simmondsina, definida anteriormente, sus formas estereoisoméricas, sus mezclas racémicas, sus metabolitos, ésteres o sus sales o sus mezclas pueden

administrarse por separado en diferentes momentos durante la terapia o simultáneamente en formas de asociaciones únicas o divididas. Por lo tanto, la presente patente, debe entenderse como que abarca todos estos regímenes de tratamiento simultáneo o en alternancia planes de tratamiento y el término "administrar" debe interpretarse en consecuencia.

5 Para administración oral, un componente activo, como esta definido aquí y en particular una simmondsina, definida anteriormente, o sus formas estereoisoméricas, sus mezclas racémicas, sus metabolitos, sus ésteres, sus sales, o sus mezclas, pueden mezclarse con aditivos apropiados, tales como excipientes, estabilizadores o diluyentes inertes y ensamblados por las formas habituales de procesos adecuados de administración como tabletas, cápsulas duras, acuosas, alcohólicas o soluciones oleosas. La goma arábiga, magnesia, carbonato de magnesio, fosfato de potasio, lactosa, glucosa o almidón, fécula de maíz especialmente son ejemplos de soportes inertes adecuados. En este caso, la preparación puede realizarse, así como gránulos tanto secos como húmedos. Los excipientes adecuados solventes oleosos son aceites vegetales o animales, como el aceite de girasol o aceite de hígado de bacalao. Los solventes aptos para soluciones acuosas o alcohólicas son el agua, el etanol, las soluciones azucaradas o sus mezclas. El glicol de polietileno y glicoles de polipropileno también son útiles como auxiliares adicionales para otras formas de administración. Como tabletas de liberación inmediata, estas composiciones pueden contener celulosa microcristalina, fosfato dicálcico, almidón, estearato de magnesio y lactosa alquilado desde otros excipientes, aglutinantes, además, desintegradores, diluyentes y lubricantes, conocidos en el arte.

Para una administración intravenosa o subcutánea, un componente activo tal como se define aquí y en particular una simmondsina, definida anteriormente o sus formas estereoisoméricas, sus mezclas racémicas, sus metabolitos, ésteres o sus sales o sus mezclas, si se desea con las sustancias habituales, como solubilizantes, emulsificantes o auxiliares adicionales, están en solución, suspensión o emulsión. Los componentes activos definidos aquí y en particular una simmondsina, definida anteriormente, o sus formas estereoisoméricas, sus mezcla racémicas, sus metabolitos, sus ésteres o sus sales o sus mezclas, también pueden ser utilizados liofilizados y los liofilizantes obtenidos, por ejemplo, en la producción de los preparativos para la inyección o perfusión. Los disolventes apropiados son, por ejemplo, el agua, la solución salina fisiológica o el alcohol como el etanol, el propanol, el glicerol, además de las soluciones dulces como soluciones de glucosa, manitol o variante de mezclas de disolventes mencionados. Las suspensiones o soluciones inyectables pueden hacerse según el arte conocido, con diluyentes o disolventes aceptables por vía parenteral, no tóxicos, apropiados, tales como el manitol, el 1,3 - butanodiol, el agua, la solución de Ringer o una solución de cloruro de sodio isotónico o agentes de dispersión o de humidificación o de suspensión apropiados como los aceites estériles, fijos, insípidos, incluyendo los mono y diglicéridos sintéticos y ácidos grasos, entre ellos el ácido oleico.

La dosis de un componente activo, definido aquí, y en particular una simmondsina, definida anteriormente, sus formas estereoisoméricas, sus mezclas racémicas, sus metabolitos, sus ésteres y sus sales o sus mezclas, a administrar, depende de cada caso y como de costumbre, deben adaptarse a las condiciones del caso para la consecución de un efecto óptimo. Depende, por supuesto, de la frecuencia de administración y de la potencia y la duración de acción de los compuestos utilizados en cada caso para el tratamiento o la profilaxis, pero también de la naturaleza y de la gravedad de la infección y síntomas y del sexo, edad, peso, medicamentos concomitantes y la sensibilidad particular de humanos o animales a tratar y del hecho que la terapia sea aguda o profiláctica. La dosis puede administrarse en forma de una dosis única o dividida en varias dosis diarias individuales, por ejemplo dos, tres o cuatro.

La memoria presente también describe un proceso para la preparación de un éster de una simmondsina, definida anteriormente, incluida la reacción de una simmondsina o de dicha simmondsina dicho con una o más técnicas adecuadas de reactivos que son bien conocidas por el experto en la materia, como por ejemplo las que están descritas en Hosoda y al. (2000); Bioorganic Med. Chem. (Letras 10:1439-1442).

Ahora, se describirá la presente patente refiriéndonos a ejemplos de aclaración. En estos, se indican todos los porcentajes en peso, temperatura, en temperatura ambiente y la presión es la presión atmosférica salvo indicación contraria.

Ejemplos :

Ejemplo 1: Preparación de una harina de jojoba desgrasada y refinada

Disponibles en el mercado, las semillas de jojoba están fragmentados y reducidas en copos para la obtención de una harina de jojoba que contiene fragmentos de peladura y aceite de jojoba. Los fragmentos de peladura se eliminan por separación mecánica. La harina que contenga el aceite es procesada por extracción con solventes que eliminan el aceite de acuerdo con el procedimiento descrito en el boletín de los Estados Unidos 5 672 371, dando así una harina de jojoba desgrasada y refinada.

Ejemplo 2: Preparación de un extracto polar de harina de jojoba desgrasada y refinada

La harina de jojoba templada y refinada conseguida en el ejemplo 1 es extraída por un solvente polar por ejemplo con una cetona, acetona, metiletilcetona o un alcohol de punto bajo de ebullición, incluyendo etanol o metanol con una pequeña cantidad de agua, normalmente inferior a 5 % en peso de agua, para aumentar la polaridad del solvente, durante un período en función de la temperatura de extracción y si se trabaja a temperatura de reflujo, por un período de pocos minutos hasta alrededor de 1 hora, lo cual es suficiente para aislar a la mayoría del disolvente polar que contiene sustancias bioactivas. Entonces se evapora el solvente polar al vacío para eliminar el solvente y el residuo es secado por liofilización. El producto liofilizado obtenido, consiste principalmente en la simmondsina y sus derivados que se encuentran naturalmente en las semillas de jojoba. Estos compuestos fueron sometidos a estas pruebas biológicas, como se describe en los ejemplos 4 y 5.

Ejemplo 3: Composición farmacéutica

Este ejemplo ilustra una composición farmacéutica que comprende los compuestos aislados de dicho extracto polar preparado en el ejemplo 2.

3.1: Aislamiento de compuestos activos

El extracto polar que se obtuvo en el ejemplo 2 también está sujeto a una serie de extracciones líquidas/líquidas o sólidas/líquidas con solventes que tienen un poder solvente variable (en isocrática y degradado). 3 principales grupos de moléculas han sido aislados del extracto polar preparado en el ejemplo 2, incluyendo:

- un grupo de 5 azúcares: d-glucosa, manosa, galactosa, xilosa y arabinosa;
- un grupo de simmondsinas: diméthylsimmondsina (mayor), desméthylsimmondsina y didesméthylsimmondsina;
- un grupo de féulatos de simmondsinas : féulatos (cis/trans) de diméthylsimmondsina, desméthylsimmondsina y didesméthylsimmondsina..

Los distintos compuestos de extractos polares pueden ser obtenidos por separación de HPLC como se muestra en el esquema 1. Está representado un cromatograma HPLC de un extracto polar total de una harina de jojoba refinada y desgrasada. Los números 1 a 7 indican respectivamente: (1) la 4,5 - didesméthylsimmondsina (aprox. 20%); (2) la 5-desméthylsimmondsina (más o menos. 15%); (3) la 4-desméthylsimmondsina (más o menos 8%); (4) la 4,5-diméthylsimmondsina (más o menos 44%); (5) los féulatos (cis/trans) de 4-desméthylsimmondsina, de 5, - desméthylsimmondsina y 4,5-didesméthylsimmondsina (más o menos 7%); (6) el féulato de 4, 5-diméthylsimmondsina (isómero cis) (aprox. 1.4%); (7) el féulato 4, 5-diméthylsimmondsine (isómero trans) (más o menos 4,3).

De acuerdo con los resultados de tales pruebas biológicas descritos en los ejemplos 4 y 5, los compuestos con alta actividad biológica, es decir, en actividad inhibitoria de la angiogénesis particular, se han descubierto de las simmondsinas y/o de los féulatos de simmondsinas (cis/trans). En estas pruebas, la actividad biológica de compuestos individuales se comparó con la actividad biológica de un extracto polar total que contiene todos los compuestos indicados anteriormente.

3.2: Preparación de una composición farmacéutica

Los compuestos de inhibición de la angiogénesis biológicos activos aislados de la harina de jojoba desgrasada y refinada pueden constituir una sola composición farmacéutica o pueden ser mezclado con un excipiente farmacéuticamente aceptable, adaptado a la vía de administración de la composición farmacéutica. Esta vía puede ser sin limitación una vía oral, tópica o una vía parenteral (intravenosa, intramuscular, sub-cutanea...).

Los ejemplos 4 y 5 proporcionan la evidencia de los efectos de inhibición de la angiogénesis con diferentes compuestos derivados de la jojoba según la patente. Las composiciones probadas en estos ejemplos incluyen:

- (a) Harina de jojoba desgrasada y refinada
- (b) A1: un extracto polar total de harina de jojoba
- (c) A2: derivados de simmondsinas (parcialmente purificados, conteniendo principalmente diméthylsimmondsina, desméthylsimmondsina (2 isómeros) didesméthylsimmondsina y todas como hidroxilo.
- (d) A3: féulatos de simmondsinas (mezcla de féulatos de todas las simmondsinas descritas en A2 como hidroxilo, esencialmente puro a +/-65%)
- (e) A4: 4, 5 - diméthylsimmondsina (como hidroxilo esencialmente puro)
- (f) A5: féulato de 4, 5-diméthylsimmondsina (cistrans) (esencialmente puro como hidroxilo)
- (g) B3: 4 - desméthylsimmondsina (como hidroxilo esencialmente puro)
- (h) B4: 5 - desméthylsimmondsina (como hidroxilo esencialmente puro).
- (i) B5: 4, 5 - didesméthylsimmondsina (como hidroxilo esencialmente puro)
- (j) B6: féulatos de simmondsinas parcialmente purificados (mezcla de todos los féulatos de simmondsinas descritos en formato A3, esencialmente puro en +/-87% como hidroxilo)

Ejemplo 4: Pruebas biológicas

En este ejemplo, las pruebas biológicas han sido realizados y explicadas a continuación aplicando pruebas CAM (membrana corioalantoidea). Las pruebas de CAM se basan en Nguyen y al. (1994, Microvasc.) Res. 47 (1): 31-40). Huevos de pollo fertilizados se incuban a 37 ° C durante 4 días. Posteriormente, la cáscara del huevo está abierta para revelar la CAM. Para reducir la presión sobre la CAM y mejorar sus propiedades de manejo, se quitan de 2 a 3 ml de albúmina. La apertura está cerrada por una tira de celofán y se vuelven incubar los huevos hasta el noveno día para la aplicación de las pruebas compuestas líquidas con diferentes concentraciones. Un modificado Eagle medio Dulbecco (DMEM) fue usado como testigo negativo, mientras que el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) fue usado como testigo positivo (estimulador de la angiogénesis). Un extracto polar total de harina de jojoba desgrasada y refinada, la diméthylsimmondsina y un inhibidor de la angiogénesis conocido en el comercio (tangéritina) fueron comparados con su actividad de inhibir la angiogénesis con respecto a la angiogénesis estimulada por el VEGF en el CAM. Cada una de estas composiciones solubilizadas fue colocada con un cuentagotas en un disco de plástico estéril (10 mm de diámetro) y secadas en condiciones estériles.

Cada disco fue tratado con acetato de cortisona (100 µl/µg50) para evitar reacciones inflamatorias. Después del secado, los discos se colocaron en el CAM con el lado cargado hacia el CAM. El disco de testigo (DMEM) se colocó a 1 cm del disco que contiene la prueba del componente. La apertura fue sellada con una tira de celofán y los huevos se volvieron a incubar. El día 11, la banda y los discos fueron retirados y formol tamponado a 10% se extendió por pulverización sobre el CAM. Se pusieron los huevos a secar durante de 2 a 4 horas a temperatura ambiente. A continuación, la CAM fue cortada y separada del huevo y colocada en un soporte de vidrio. El índice de densidad vascular se mide según Hooooker Harris y al. (1983); J. cell. Physiol. 114:302-310); todos los capilares que cruzaban 3 círculos concéntricos con un diámetro de 6, 8 y 10 mm, fueron contados, como se muestra en el esquema 2. En el esquema 2A, se muestra la situación en el día 4; se elimina la albúmina para bajar la presión en el CAM. En el esquema 2 (b), se ilustra la situación el día 9: están implantados discos no cargados o cargados con la sustancia de ensayo. El esquema 2 muestra la situación el día 11: se cuentan las intersecciones entre los vasos y 3 círculos concéntricos y se calcula el índice angiogénético.

El índice angiogénético (IA) esta expresado como $\{(t/c) \times 100\} - 100$, en el cual la t es el número total de vasos cruzantes donde el disco contiene el componente prueba y (c) el número total de vasos cruzantes de donde se colocó el disco testigo. La composición está clasificada como positiva cuando el IA > 10 % y negativa cuando el IA < 10 %. Cuando IA se sitúa entre -10% y +10%, ningún efecto es atribuido a la composición de la prueba examinada.

4.1 : Experimento 1

Los resultados de un primer experimento se muestran en la tabla 3 y en el esquema 3. En el esquema 3 y en la tabla 3, (1) designa el DMSO, (2) el DMEM, (3) el VEGF, (4) el extracto polar, (5) el extracto polar total + el VEGF, (6), diméthylsimmondsina (7) la diméthylsimmondsina, + el VEGF et (8) la tangéritina.

Tabla 3

Substancia prueba	1	2	3	4	5	6	7	8
Max	16,130	7,920	61,040	-7,920	-7,460	12,840	0,080	-12,260
Media	-6,998	-19,043	43,060	-15,500	-15,034	-3,322	-22,220	-17,848
Min	-27,970	-59,400	15,120	-18,640	-27,630	-12,660	-35,800	-23,880
Dif-tipo	20,719	22,573	15,151	4,334	8,104	10,369	13,467	4,236
Error-tipo	9,266	9,215	5,726	1,938	3,624	4,637	5,498	1,894
Número de muestras	5	6	7	5	5	5	6	5

Los resultados mostraron que CAM estimulado por el VEGF presentaba un crecimiento significativo de los vasos sanguíneos para el grupo de testigo negativo (DMEM). El extracto total polar (A1), así como la esencia pura de diméthylsimmondsina (A4) presentaban una inhibición de la angiogénesis significativa comparable a la tangéritina. La adición de compuestos de jojoba asociados al VEGF anuló totalmente el efecto del VEGF, lo que sugiere un efecto real de la inhibición de la angiogénesis. 4.2 : Experimentos 2 y 3

Los resultados de un segundo y tercer experimento se muestran en el esquema 4 y en la tabla 4 y en la figura 5 y en el cuadro 5, respectivamente. En la figura 4 y tabla 4, (1) designa el DMEM, (2) el VEGF, (3) el extracto polar y (4) la diméthylsimmondsina. En la tabla 5 y esquema 5, (1) designa el DMEM, (2), el VEGF, (3) el extracto polar + el VEGF y (4) la diméthylsimmondsina + el VEGF.

Tabla 4

Substancia prueba	1	2	3	4
Max	-16,700	112,700	20,000	1,110
Media	-28,180	62,890	-8,860	-19,670
Min	-35,000	31,800	-33,300	-35,700
Difer-tipo	6,936	30,524	19,587	15,090
Error-tipo	13,651	13,651	8,760	6,749
Número de muestras	5	5	5	5

Tabla 5

Substancia prueba	1	2	3	4
Max	-6,560	47,470	-14,560	-11,720
Media	-17,372	25,586	-24,395	-21,248
Min	-25,000	-11,270	-33,330	-27,180
Difer-tipo	6,710	22,437	7,702	6,535
Error-tipo	3,001	10,034	3,144	2,668
Número de muestras	5	5	6	6

Los resultados del segundo y tercer experimentos han confirmado la actividad de inhibir la angiogénesis del extracto polar total (A1) y el diméthylsimmondsina que se deriva. Aunque esencialmente pura la diméthylsimmondsina (A4) se utilizó en la misma concentración que el extracto polar total, sus propiedades de inhibición de la angiogénesis fueron inferiores que el extracto polar total, pero no obstante seguían siendo significativas. Esto sugiere que en este ejemplo, otros compuestos presentes en el extracto polar total diferentes de la diméthylsimmondsina (A4) son poderosos agentes para la inhibición de la angiogénesis.

Exemple 5 : Pruebas biológicas

El ejemplo siguiente muestra los efectos de la inhibición de la angiogénesis de un extracto polar de harina desgrasada y refinada de jobo y de una simmondsina o sus derivados, contenidos en el extracto.

Aislamiento de células HUVEC (células endoteliales vasculares humanas) se obtuvieron como lo describe Jaffe y al. (J. Clin. Invest 1973; 52:2745-2746) y cultivados para conseguir una confluencia en cajas recubiertas de fibronectina en el M199 al cual se añadió 20 mM HEPES (pH 7.3), suero humano a 10%, suero de ternero recién nacido (NBCS) inactivo térmicamente a 10 % 150 µg/ml de factor de crecimiento endotelial (ECGF) en estado bruto, 2 mM L-glutamina, 5 UI/ml de heparina, 100 UI/ml de penicilina y 100 µg/ml de estreptomina a 37 ° C en una atmósfera de 5% de CO₂ y 95% de aire. Los cultivos de confluencia HUVECS (paso 0) fueron destacados por el tratamiento trlpsina/EDTA, recogidas y cultivadas después de una tasa de resiembra de 1/3 hasta la confluencia (paso 1). A continuación, las HUVEC reunidas se han congelado en alícuotas de 10 cm² en frascos de azote líquido (nitrógeno líquido).

Una semana antes de la proliferación, los frascos de HUVEC (paso 1) fueron descongelados y cultivados (después de una tasa de resiembra de 1/3) hasta la confluencia (paso 2).

5.1 : Proliferación de células medidas por la incorporación de [³H]-timidina

En el primer experimento, los cultivos confluentes de HUVEC (paso 2) fueron separados por una solución de tripsina/EDTA y listas para adherirse y propagarse a una densidad de células apropiadas en cajas recubiertas de gelatina en un medio de M199 HEPES, al que se añadió el NBCS procesado inactivo térmicamente a 10% y 100 UI/ml de penicilina 100 µg/ml de estreptomina. Al cabo de 18 horas, las HUVEC fueron estimuladas con 6,25 ng/ml del factor de crecimiento endotelial vascular de tipo A (VEGF-α) en M199 HEPES, UI/ml 100 de penicilina y 100 µg/ml de estreptomina, NBCS a 10% en pozos dobles, con o sin los derivados de simmondsinas indicados. Después de un período de incubación de 48 horas, una cantidad de seguimiento (0,5 µCi/pozos) de [³H] - timidina fue agregada y se incubaron las células para un nuevo período de 6 horas. A posteriori, las células fueron lavadas con PBS, ADN marcado al [³H] ha sido fijado con metanol y precipitado en ácido tricloroacético a 5% y finalmente disueltas en 0,5 ml de 0,3 M de NaOH y contadas en un detector de neutrinos.

El esquema 6 muestra la inhibición de la proliferación de las HUVEC inducida por el VEGF-α por los derivados de las simmondsinas. Las HUVEC no confluentes fueron cultivadas durante 48 horas en la ausencia o presencia del VEGF-α o del VEGF-α, en asociación con los derivados de las simmondsinas A1, A4, A5, B3, B4, B5, B6 (en v/v) en M199 al que se ha añadido NBCS 10%. A cabo de 48 h, una cantidad de rastreo de [³H]- timidina ha sido agregado y la incubación continuó en el mismo medio durante otras 6 horas y la incorporación de [³H]- timidina fue determinada. Los datos se expresan como ETM ± promedio de los pozos replicados por triplicado.

Esta experiencia proporciona la evidencia del efecto antiangiogénico de los derivados de simmondsinas. Las simmondsinas derivadas son capaces de inhibir la proliferación de células endoteliales humanas inducidas por el VEGF. Según el esquema 1, la diméthylsimmondsina (A4) es un componente importante (mayor) del extracto polar total (A1). El esquema 6 muestra claramente en este ejemplo que la actividad biológica del extracto polar usado es principalmente debida a la presencia de sustancias distintas a la diméthylsimmondsina.

5.2 : Proliferación de células medidas para el recuento de las células

Una monocapa confluyente de HUVEC (paso 2) fue secundada por una solución de tripsina/EDTA lista para adherirse y propagarse a una densidad de células con una confluencia a 15 % en ampollas recubiertas de gelatina de M199-HEPES a las cuales se añadieron NBCS inactivo térmicamente a 10% y 100 UI/ml de penicilina y 100 µg/ml de estreptomycin. Al cabo de 18 horas, las HUVEC fueron estimuladas con 2,5 ng/ml de factor de crecimiento fibroblasto básico (βFGF) en el M199-HEPES, la penicilina/estreptomycin, el NBCS a 10% del DMSO a 0,1% en pozos en triple durante 6 días, con una actualización del medio (+composiciones) en el cuarto día, con las composiciones de A1, A2, A3, A4 o A5 o un vehículo (=DMSO a 0,1%). Se evaluó la morfología de las células con el microscopio y el número de células se determinó por análisis de imagen.

El esquema 7 muestra el efecto de los derivados de simmondsinas arriba mencionadas en monocapas confluentes a 15% y 100% de HUVEC fueron preincubadas (gráfico izquierdo) o continuamente incubadas (gráfico derecho) con o sin las concentraciones indicadas (p/v) de las composiciones A1, A2, A3, A4, A5, en presencia continua del βFGF. Al cabo de 3 (100%) o 6 (15%) días, se han tomado imágenes y el número de células/cm² fue determinado y expresado como diferencia tipo ± medio (como se indica por las barras de error) de los pocillos triplicados.

Esta experiencia proporciona la prueba del efecto antiangiogénico de las simmondsinas. Las composiciones probadas fueron capaces de inhibir la proliferación de células endoteliales humanas inducida por el βFGF. Dado que el 100 % de células confluentes tratadas continuamente con las composiciones anteriormente mencionadas no presentan ninguna mortalidad significativa, también se puede concluir que las composiciones anteriormente mencionadas no son citotóxicas. Los resultados de este experimento han demostrado que las composiciones anteriores no son citotóxicas significativamente a un órgano, sino que presentan una inhibición significativa de la proliferación de células endoteliales.

5.3 : Prueba de la angiogénesis in vitro: formación de tubos en matrices de fibrina en 3D fibrina de tubo

Matrices de fibrina humana fueron preparadas por la adición de trombina de 0,1 UI/ml a una mezcla obtenida en el comercio (Chromogenix AB, Mölndal, Suecia) 2 mg/ml de fibrinógeno (concentraciones finales), 2 mg/ml de citrato de Na, 0,8 mg/ml de NaCl, 3 µg/ml de plasminógeno en medio de M199 y 2,5 UI/ml del factor XIII. Alícuotas de 100 µl de esta mezcla se agregaron a los pozos de placas de 96 pocillos. Después de la coagulación a temperatura ambiente, las matrices de fibrina fueron empapadas con el M199 a la que se agregó HS 10% y NBCS a 10% durante 2 horas a 37 ° C para convertir la trombina inactiva. Las células endoteliales microvasculares humanas congeladas (hMVEC, 0,7 x 10⁵ células/cm²) fueron descongeladas y sembradas con una tasa de resiembra de 1,8/1 en matrices de fibrina y cultivadas durante 24 horas en un ambiente de M199 al que se agregó suero humano a 10%, NBCS a 10% y 100 UI/ml de penicilina y 10 µg/ml de estreptomycin. Entonces, los hMVEC fueron estimuladas con mediadores y/o derivados de simmondsinas durante 7 días. Un ambiente fresco, que contenía los inhibidores y/o mediadores fue añadido uno de cada dos días. Las células invasoras y la formación de estructuras tubulares de los hMVEC en la matriz de fibrina tridimensional fueron analizadas por microscopía de contraste de fase. La longitud total de las estructuras de tipo tubo de cuatro campos microscópicos (7,3 mm² champ) (en el sentido de las agujas de un reloj) fue medida utilizando un microscopio Olympus CK2 equipado de un cámara CCD monocromo (MX5) conectada a un ordenador con software de análisis de imágenes Optimas y expresada como mm/cm² (Koolwijk y al. J. Cell Biol. 1996, 132:1177-1188).

La figura 8 muestra el efecto de los derivados de simmondsinas en la formación de tubos in vitro en matrices de fibrina en 3D por los hMVEC. Los hMVEC fueron cultivados en la matriz de fibrina en 3D en M199 de suero humano a 10%, NBCS a 10% a los que se agregó VEGF-α (25 ng/ml) y TNFα (10 ng/ml) en presencia o ausencia de las concentraciones indicadas (p/v) de las composiciones A1, A2, A3, A4, A5, B4, B5 y B6. Después de 7 días de cultivo, se han tomado imágenes microscópicas (esquema 8 A, Efecto de la composición de A1) y la longitud total de los tubos (mm/cm²) fue medida utilizando un equipo de análisis de imagen. Los datos se expresan como la media de dos pozos, indicado por las barras de error (esquema 8 B).

Los resultados de este experimento muestran que derivados de simmondsinas son capaces de inhibir la formación de tubos *in vitro* inducida por VEGF por células endoteliales microvasculares humanas en matrices de fibrina tridimensionales. La mayor actividad biológica se observó con la desméthylsimmondsina, la didesméthylsimmondsina y sus respectivos ferulatos.

5.4 :Prueba del angiogénesis ex vivo

Un prueba de la angiogénesis ex vivo se realizó como se describe anteriormente (Deckers y al, Lab Invest. 2001 81:5-15). Fetos mayores de diecisiete días fueron recogidos en ratones albinos Swiss embarazados y los metatarsos fueron disecados. Los metatarsos aislados fueron cultivados en placas de 24 pocillos en 150µl de medio esencial mínimo (αMEM, Life technologies, Breda, Holanda) a la que se agregó suero bovino fetal inactivo térmicamente a 10% (v/v) y 100 UI/ml de penicilina y 100 µg/ml de estreptomina (Life technologies) durante 72 horas. Los cultivos realizaron en seis ejemplares y cada experiencia se repitió al menos dos veces. Después de 72 horas (fase de adhesión), los metatarsos se fijaron a la materia plástica de cultivo y el medio fue sustituido por 250 µl de medio fresco + 10 ng/ml de α-rhVEGF (Reliatech, Braunschweig, Alemania) en la presencia o ausencia del 1% de la composición A1 (p/v) . El inhibidor de MMP marimastat fue generosamente facilitado por Chiriscience Inc. (Cambridge, Reino Unido). Los metatarsos se cultivaron durante 14 días y el medio fue sustituido cada 7 días. Al final del período del cultivo, los cultivos fueron fijados en ZnMF durante 15 minutos a temperatura ambiente y luego teñidos para detectar el PECAM-1.

El esquema 9 muestra el efecto del compuesto A1 en la formación de tubos ex vivo inducida por el VEGF procedente de metacarpianos de fetos de ratón. El esquema ilustra la aparición evidente de estructuras de tipo tubo positivo al PECAM 1. Los metacarpianos de fetos de ratón fueron incubados con 10ng/ml de VEGF en ausencia (esquema 9A) o en presencia de 10 uM de marimastat (esquema 9B) o de 1 % del compuesto A1 (p/v) (esquema 9C). Al cabo de 14 días de cultivo, las estructuras de tipo tubo fueron teñidas para detectar el PECAM-1.

Los resultados de este experimento demostraron que los huesos de testigos mostraban un evidente crecimiento de vasos sanguíneos (esquema 9). Las composiciones anteriores inhiben claramente el crecimiento de los vasos sanguíneos. Los huesos tratados con las composiciones anteriores permanecieron viables. En este experimento, polar total (A1) (esquema 9C) fue más efectivo para inhibir la angiogénesis como marimastat, en una matriz disponible de metaloproteinasas con propiedades de inhibición de la angiogénesis (esquema 9B).

En conclusión, este ejemplo proporciona evidencias que prueban que las composiciones impiden la excrecencia ex vivo de estructuras de tubo de tipo de células endoteliales procedentes de metacarpianos de ratones fetales. Las composiciones probadas presentaban una actividad de inhibición de la angiogénesis pero no eran tóxicas para las células óseas.

5.5 : Angiogénesis in vivo : prueba en cámaras de Matrigel

Se realizó la prueba in vivo en cámaras de Matrigel como esta descrito por Kragh y al.(Int. J Oncol. 2003 22: 305-311). Brevemente, placas de filtrado con anillo de nylon plexiglas/redes (0,2 ml) que contienen el Matrigel reducido por un factor de crecimiento y 200 ng de factor de crecimiento de fibroplasto básicoβFGF se implantaron por vía subcutánea en los costados de los ratones FVB/N de 3 meses de edad. Los ratones fueron alimentados con o sin harina de jojoba desgrasada y refinada (2.7 %p/p) que contenía todas las simmondsinas y sus derivados en los mismos naturalmente, mezclada en los alimentos de rata. La angiogénesis en las cámaras fue evaluada como superficial en el día 14 después de la implantación.

El esquema 10 ilustra el efecto de la harina de la jojoba desgrasada y refinada (2.7% p/p) sobre la vascularización inducida por el βFGF de cámaras de Matrigel in vivo. El área de crecimiento relativo se expresa como el intervalo de ± media (como se indica por las barras de error) de dos cámaras en % de la superficie total de Matrigel. Esto demuestra que las simmondsinas probadas inhiben la neovascularización in vivo de las cámaras de Matrigel en ratones después del tratamiento oral.

En conclusión, los efectos antiangiogénicos derivados de las simmondsinas fueron ilustrados. Los derivados de las simmondsinas arriba indicados son capaces de i) inhibir la proliferación de las células humanas endoteliales inducidas por el VEGF y el βFGF (ver 5.1 y 5.2), ii) de inhibir la formación de tubos in vitro inducida por el VEGF por células endoteliales microvasculares humanas en matrices de fibrina tridimensionales (véase 5.3), iii) de inhibir la excrecencia ex vivo de estructuras de tipo tubo de las células endoteliales procedentes de metacarpianos de ratones fetales (vease 5.4) e iv) de inhibir la neovascularización in vivo de las cámaras de Matrigel en ratones (véase 5.5).

Además de los resultados de estos experimentos biológicos, se puede concluir que

- a) las desméthylsimmondsinas y las didesméthylsimmondsinas y sus respectivos ferulatos tienen propiedades de inhibir la angiogénesis elevada como lo demuestran los ensayos in vitro e in vivo.
- b) el férulato de diméthylsimmondsina presenta una actividad inhibitoria de la angiogénesis mayor que la diméthylsimmondsina no sustituida.

Además, se ha demostrado que los compuestos diferentes de acuerdo con este invento presentan diferencias cuantitativas y cualitativas en diversas etapas en el proceso angiogenético .

Ejemplo 6 : Bioensayo de actividad estrogénica

Este ejemplo demuestra que los componentes activos de acuerdo con la patente no tienen una importante actividad de tipo estrógeno.

- 5 En un experimento, se agregaron a 25 ml del medio de crecimiento células de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) que contenían un receptor de estrógeno humano (100 μ l). El medio de crecimiento incluía
- D-glucosa (2,5 ml procedente de 20 g de D-glucosa en 80 ml de agua);
 - ácido L-aspártico (0.625 ml procedente de 400 mg en 100 ml de agua);
- 10 - una solución vitaminada (0.250 ml procedente de 8 mg de tiamina, 8 mg piridoxina, 8 mg de ácido pantoténico, 40 mg de inositol y 20 ml de una solución de biotina (2 mg en 100 ml de agua) en 180 ml de agua;
- L-treonina (0,2 ml procedente de 100 ml de agua), sulfato de cobre (II) (0.0625 ml procedente de 160 mg en 50 ml de agua);
- 15 - un medio mínimo (22.5 ml procedente de 1 l de agua) compuesto de 13.61 g de dihidrogenofosfato de potasio, 1,98 g de sulfato de amonio, 4,2 g de hidróxido de potasio, 1 ml de sulfato de hierro (III) (40 mg en 50 ml de agua), 50 mg de L-leucina, 50 mg de L-histidina, 50 mg de adenina, clorhidrato de L-arginina 20 mg, 20 mg de L-metionina 30 mg de L-tirosina, 30 mg de L-isoleucina, 30 mg clorhidrato de L-lisina, 25 mg de L-fenilalanina, 100 mg L-glutámico, 150 mg de ácido L-valina, 375-de L-serina y rojo de clorofenil bêta-D-galactopiranosida (0,250 ml).
- 20 17 compuestos de beta-estradiol (partes alícuotas de 20 μ l de 0.008 nM a 100 nM, preparadas a partir de 10 mg en 10 ml de etanol) y prueba, en concentraciones de 1, 10, 100, 1000 μ M, se colocaron con una pipeta, en placas de 96 pocillos en una campana de flujo estéril. Se dejó el disolvente evaporarse durante unos 40 minutos.
- El medio de cultivo que contenía la levadura se distribuyó a todos los pocillos excepto los pozos vacíos, en alícuotas de 100 μ l. Las placas se incubaron a 32 ° C en un ambiente húmedo durante 3 días y luego se identificaron a 540/360 nm por un lector de microplacas placa (lector labsystems Muliskan ascenso, Thermo labsystems, Vantaa, Finlandia).
- 25 Los resultados del experimento se representan en el esquema 11. Los compuestos probados incluyen (1) Z de simmondsina-2'-ferulato, (2) simmondsina (E)-2'-ferulato (3) de 4-desméthylsimmondsina, 5-desméthylsimmondsina, (5) del (4) de 4,5 - diméthylsimmondsina y (6) de la didesméthylsimmondsina. Respecto a las muestras principales, queda claro que los compuestos probados en las concentraciones probadas no tienen ninguna actividad significativa de estrógeno.

30

REIVINDICACIONES

- 5 1. Utilización de un compuesto de simmondsinas seleccionada en el grupo que incluye: la 4-desméthylsimmondsina, la 5-desméthylsimmondsina, la 4,5-didesméthylsimmondsina, la 4,5 diméthylsimmondsina, el 4-desméthylsimmondsina-2'-ferulato, el 5-desméthylsimmondsina-2'-ferulato, el 4,5-didesméthylsimmondsina-2'-ferulato, el 4,5 diméthylsimmondsina-2'-ferulato, y todas sus mezclas, sus formas estereoisoméricas, sus mezclas racémicas, sus ésteres o sus sales, para la fabricación de un fármaco destinado al tratamiento de las enfermedades relacionadas con el angiogénesis, seleccionadas en el grupo que incluye el cáncer, los hemangiomas, la formación de placas de aterosclerosis, las enfermedades inflamatorias, artritis, psoriasis, preclampsia, fibrosis del hígado y de los riñones, retinopatía proliferativa, maculopatía diabética debida a la edad, retinopatía diabética, macula degenerativa, glaucoma neovascular, fibroplasia retrolental y vascularización retiniana por inhibición del angiogen.
- 10 2. Utilización según la reivindicación 1, dicha simmondsina se encuentra naturalmente en la jojoba y es obtenida a partir de un extracto polar de harina de jojoba reducido en grasa y refinado.
- 15 3. Utilización según la reivindicación 1, dicho compuesto es el metabolito del compuesto denominado de la simmondsina.
- 20 4. Utilización de una harina de semillas de jojoba reducida en grasa y refinada o de un extracto polar de la misma para la elaboración de un fármaco destinado a tratamiento de las enfermedades relacionadas con el angiogénesis seleccionadas en el grupo que incluye el cáncer, los hemangiomas, la formación de placas de arterosclerosis, las enfermedades inflamatorias, artritis, psoriasis, preclampsia, fibrosis del hígado y de los riñones, retinopatía proliferativa, maculopatía diabética debida a la edad, retinopatía diabética, macula degenerativa, glaucoma neovascular, fibroplasia retrolental y vascularización retiniana por inhibición del angiogénesis.
- 25 5. Utilización según la reivindicación 4, dicha harina de semillas de jojoba se elabora como un batido.
- 30 6. El compuesto del simmondsina seleccionado en el grupo que incluye: la 4-desméthylsimmondsina, la 5-desméthylsimmondsina, la 4,5-didesméthylsimmondsina, la 4,5 diméthylsimmondsina, el 4-desméthylsimmondsina-2'-ferulato, el 5-desméthylsimmondsina-2'-ferulato, el 4,5-didesméthylsimmondsina-2'-ferulato, el 4,5 diméthylsimmondsina-2'-ferulato, y todas sus mezclas, sus formas estereoisoméricas, sus mezclas racémicas, sus ésteres o sus sales, para la fabricación de un fármaco destinado al tratamiento de las enfermedades relacionadas con el angiogénesis, seleccionadas en el grupo que incluye el cáncer, los hemangiomas, la formación de placas de aterosclerosis, las enfermedades inflamatorias, artritis, psoriasis, preclampsia, fibrosis del hígado y de los riñones, retinopatía proliferativa, maculopatía diabética debida a la edad, retinopatía diabética, macula degenerativa, glaucoma neovascular, fibroplasia retrolental y vascularización retiniana por inhibición del angiogen.
- 35 7. Compuesto según la reivindicación 6, dicha simmondsina se halla naturalmente en la jojoba y se consigue a partir de un extracto polar de harina de jojoba reducido en grasa y refinado.
- 40 8. Compuesto según la reivindicación 6, dicho compuesto es el metabolito de la denominada composición de la simmondsina.
- 45 9. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 6 a 8, caracterizado además por su contenido de uno o varios excipientes farmacéuticos sólidos o líquidos y/o adyuvantes y/o otros compuestos farmacéuticos activos.
- 50 10. La harina de semillas de jojoba reducida en grasa y refinada o de un extracto polar destinado al tratamiento de las enfermedades relacionadas con el angiogénesis selecciona en el grupo que incluye el cáncer, los hemangiomas, la formación de placas de aterosclerosis, las enfermedades inflamatorias, artritis, psoriasis, preclampsia, fibrosis del hígado y de los riñones, retinopatía proliferativa, maculopatía diabética debida a la edad, retinopatía diabética, macula degenerativa, glaucoma neovascular, fibroplasia retrolental y vascularización retiniana por inhibición del angiogen.
- 55 11. La harina de semillas de jojoba según la reivindicación 10, se elabora al igual que un batido.

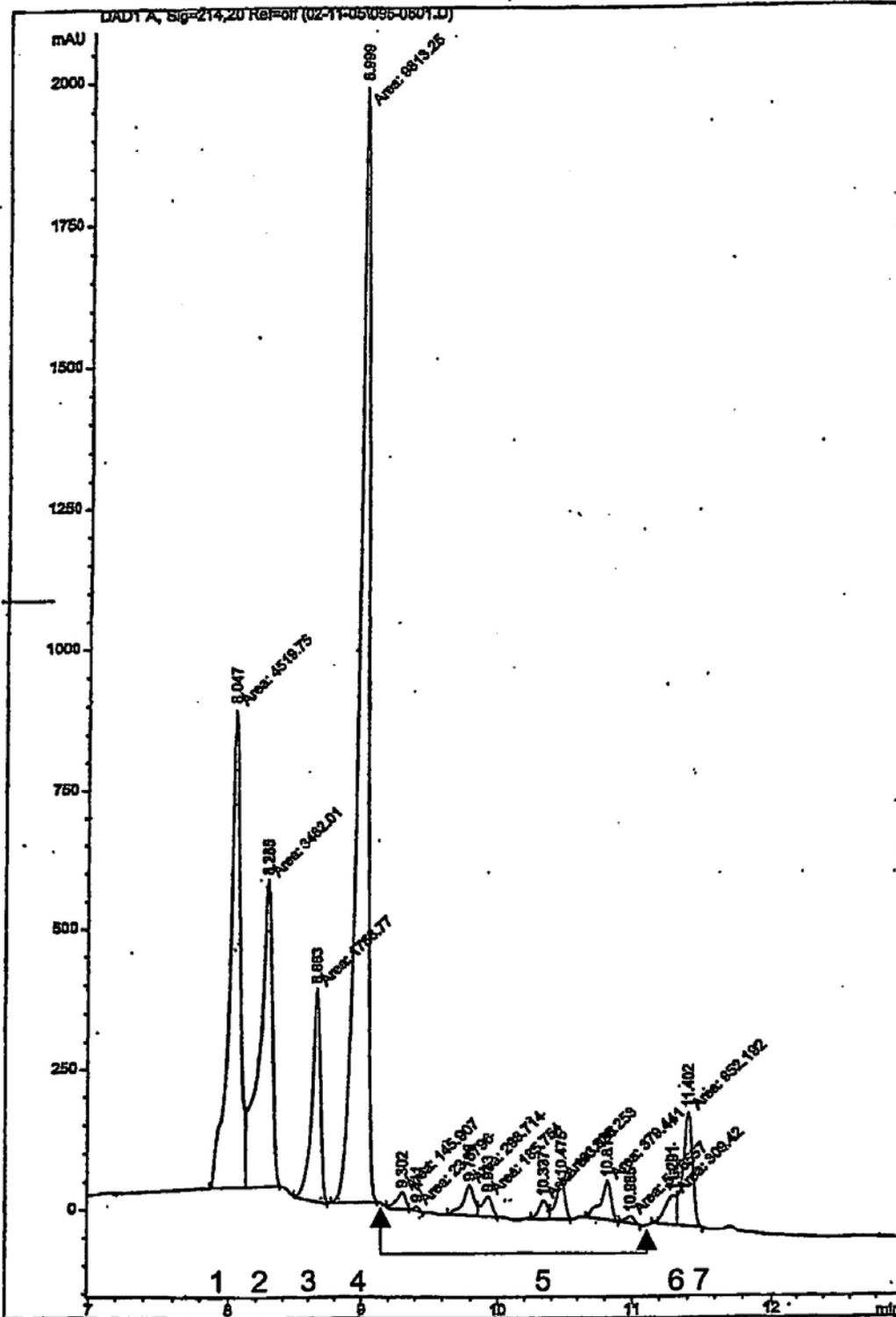


Fig. 1

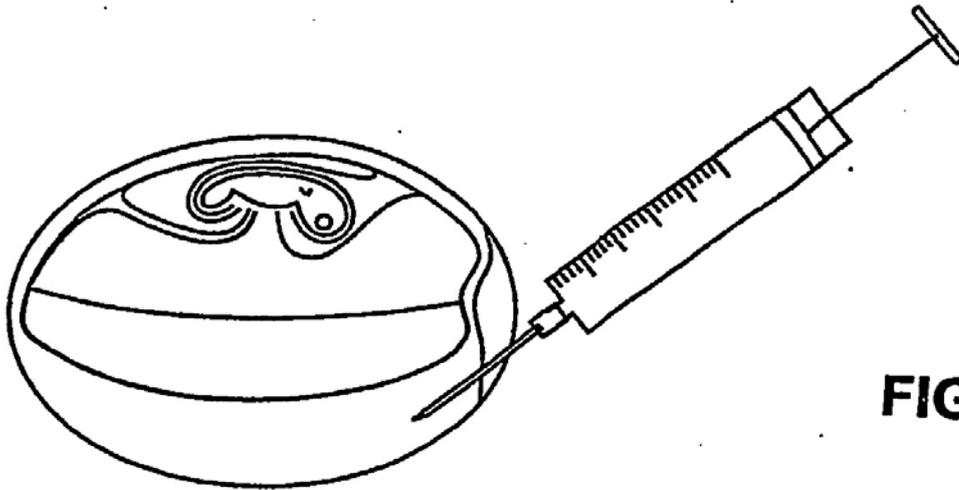


FIG. 2A

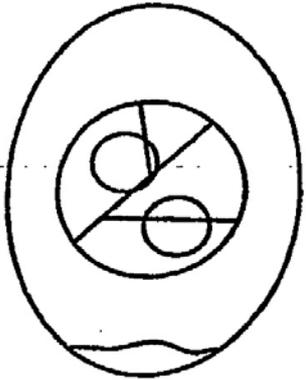


FIG. 2B

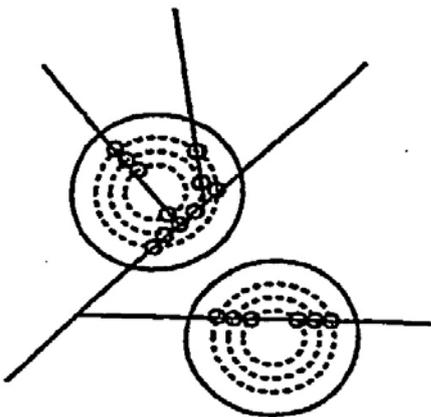


FIG. 2C

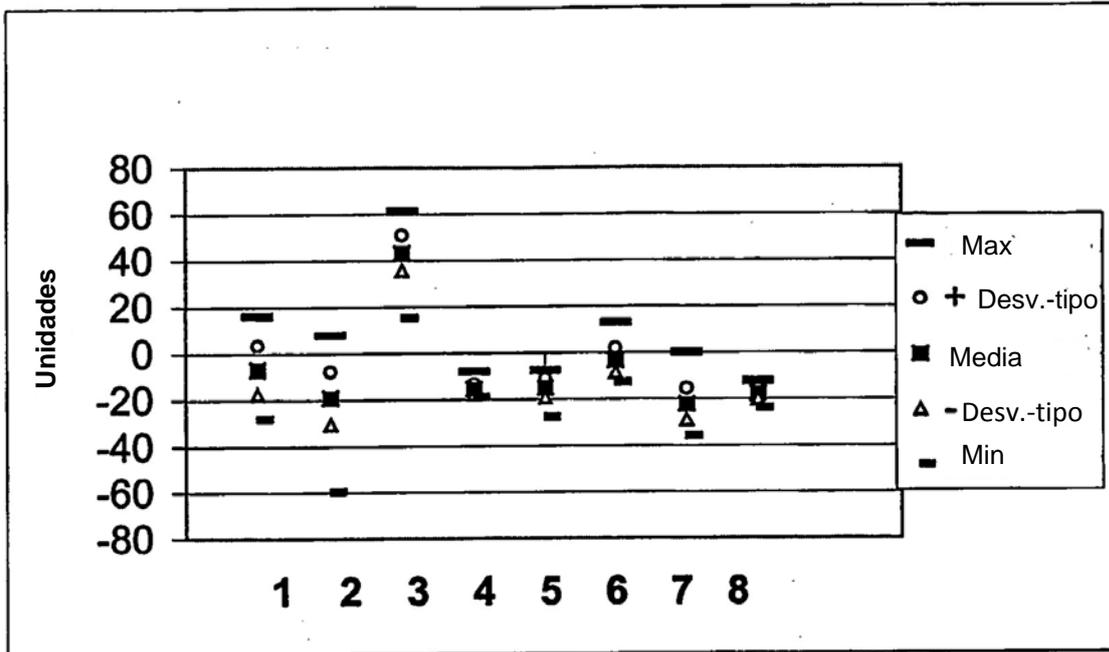


Fig. 3

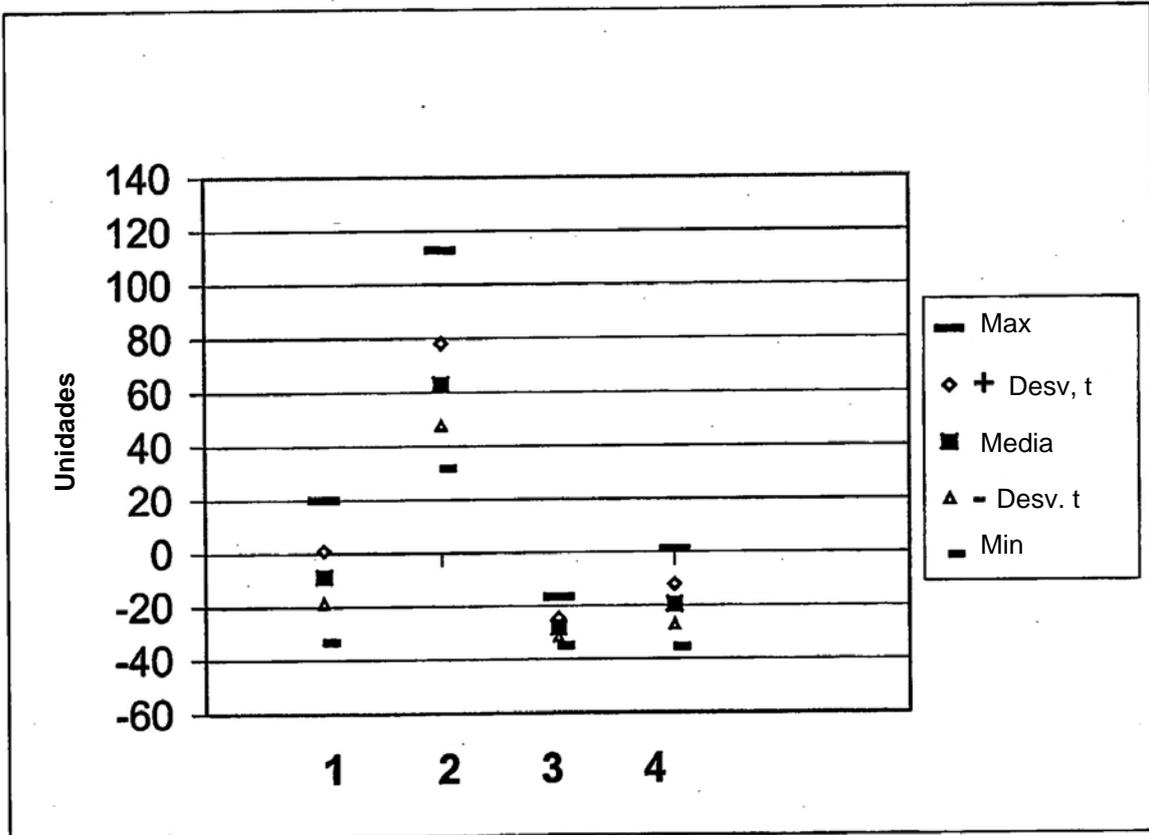


Fig. 4

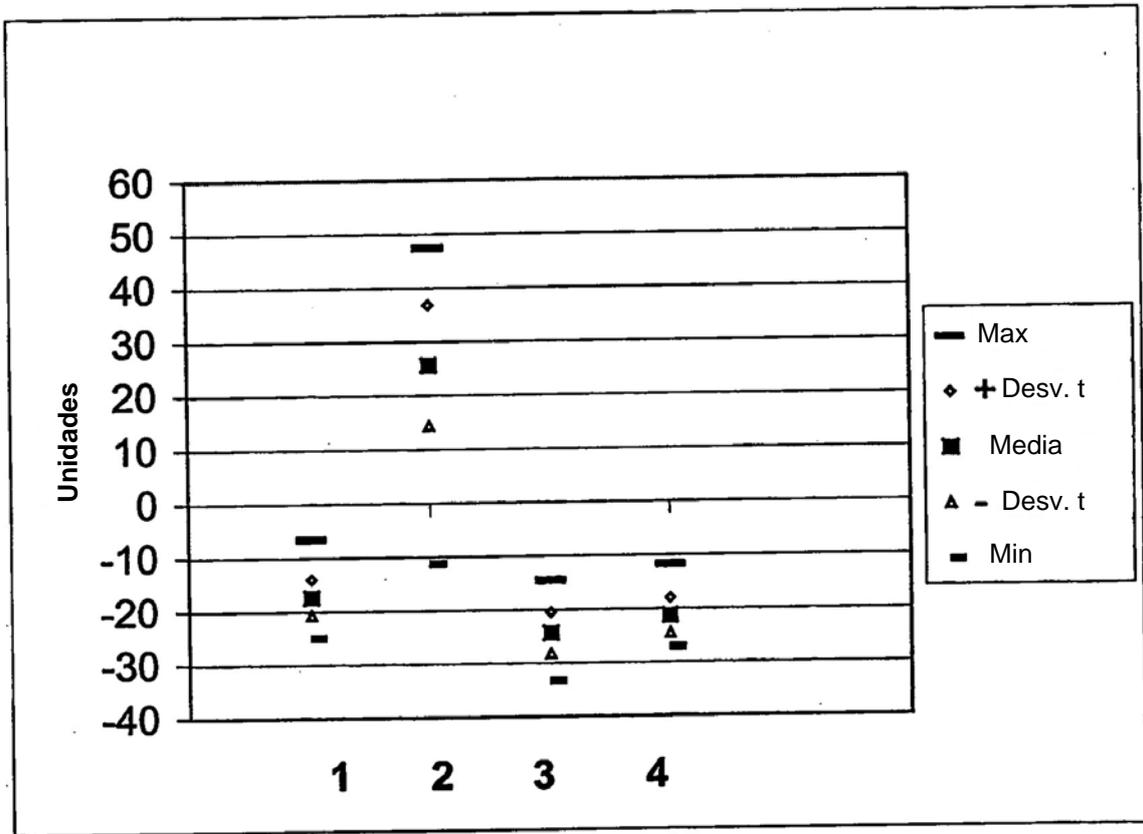


Fig. 5

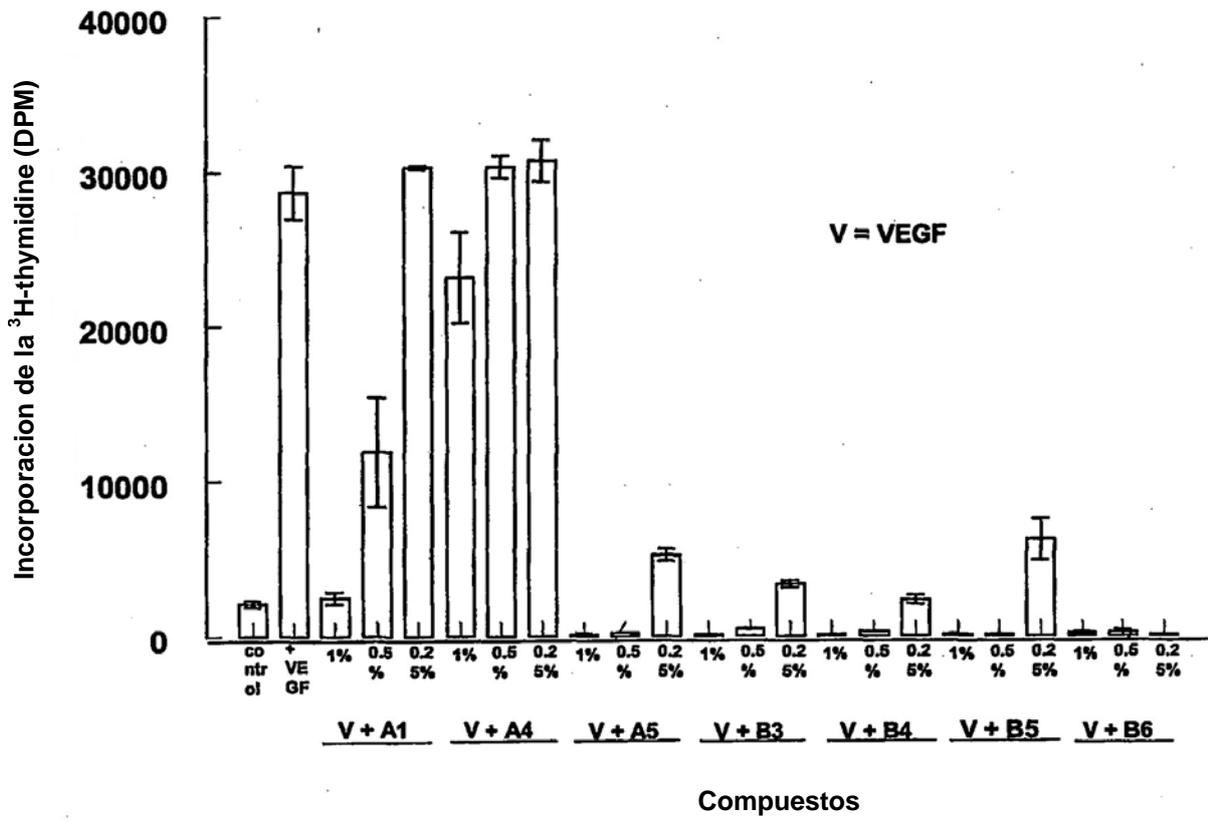


Fig. 6

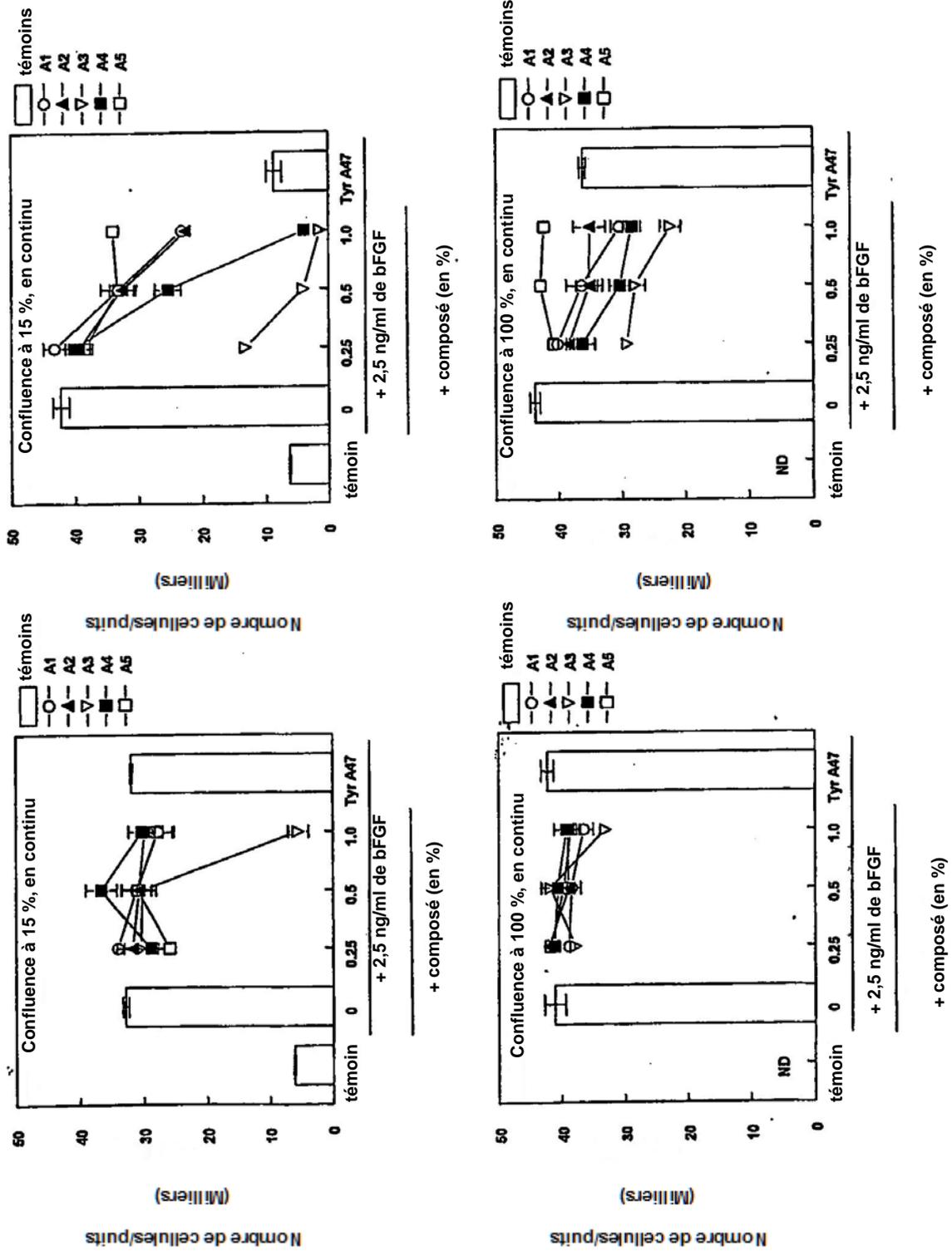


Fig. 7

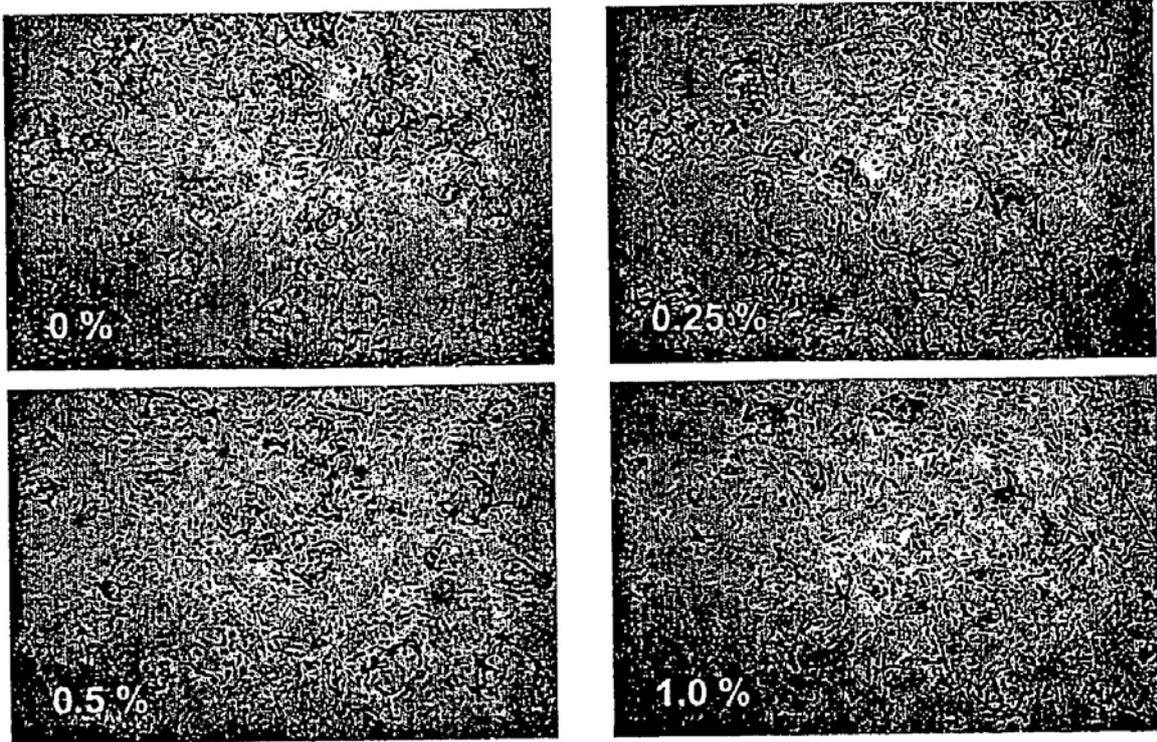


Fig. 8A

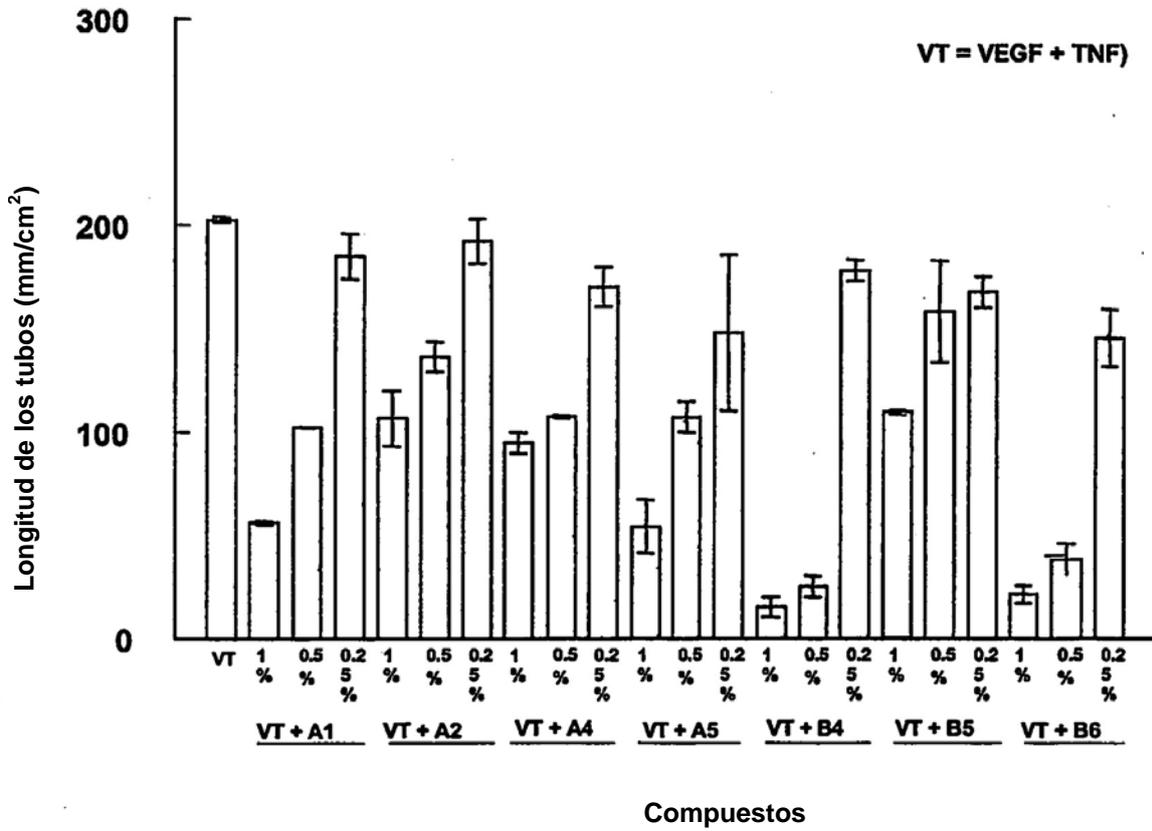


Fig. 8B



FIG. 9A



FIG. 9B



Fig.9C

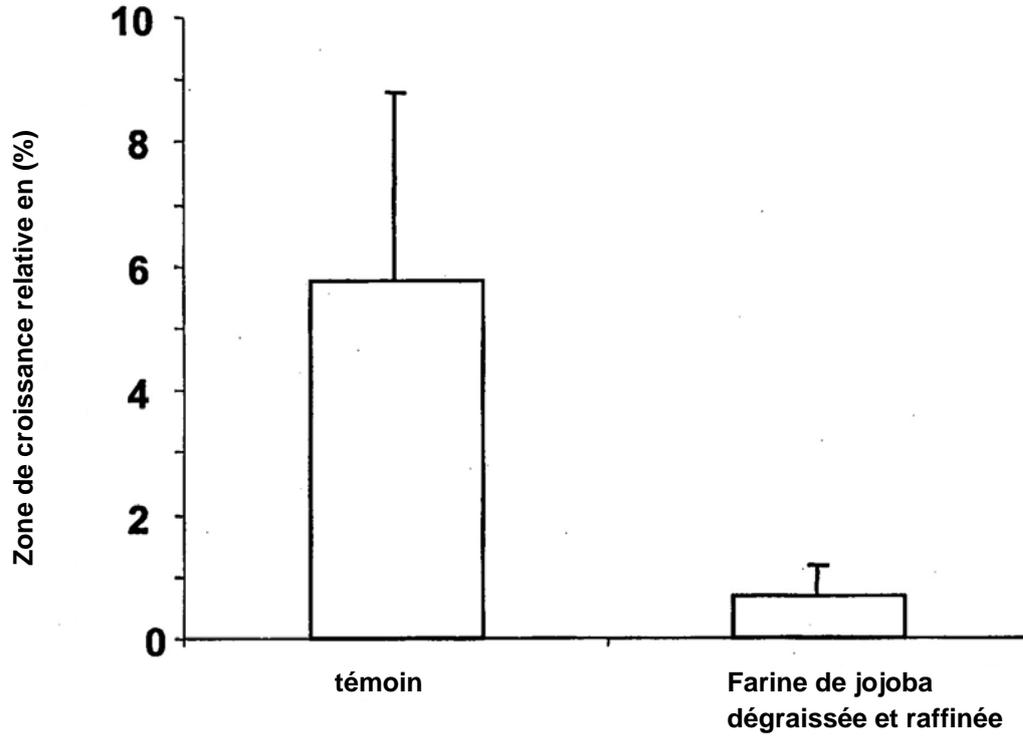


Fig. 10

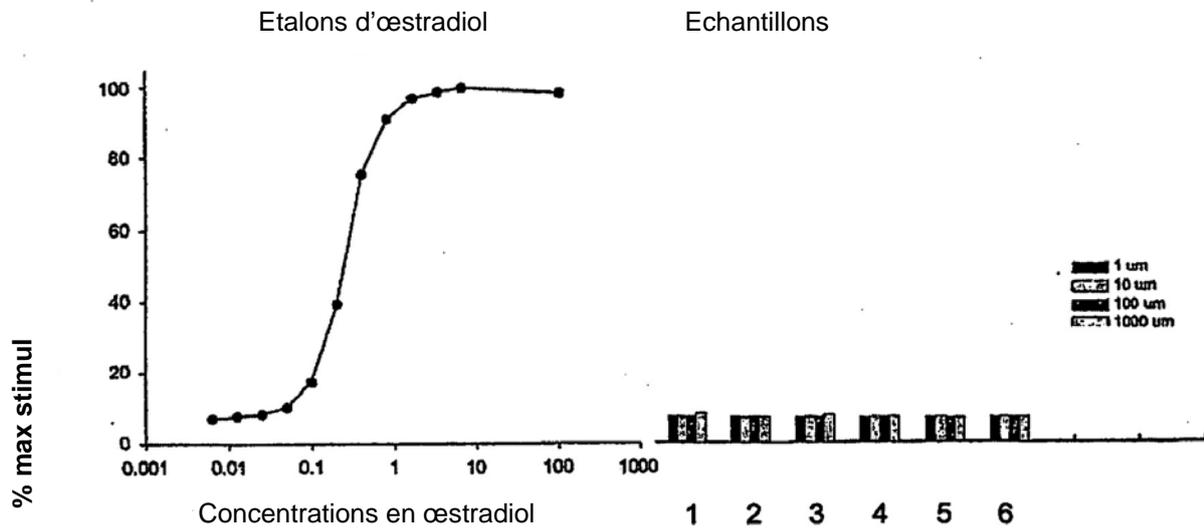


Fig. 11