(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 613 580**

(51) Int. Cl.:

C12P 7/64 (2006.01)
A61K 31/201 (2006.01)
A61K 31/202 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **23.06.2010** **PCT/ES2010/070424**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **29.12.2011** **WO2011161274**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.06.2010** **E 10737087 (6)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.11.2016** **EP 2586869**

(54) Título: **Procedimiento para la producción de ácido grasos (poli)insaturados utilizando microalgas**

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
24.05.2017

(73) Titular/es:

Stroïazzo-Mougin, Bernard A.J. (100.0%)
C/ Josep Poveda Verdú 4F
03560 El Campello (Alicante), ES

(72) Inventor/es:

STROÏAZZO-MOUGIN, BERNARD A. J.

(74) Agente/Representante:

SALVA FERRER, Joan

ES 2 613 580 T3

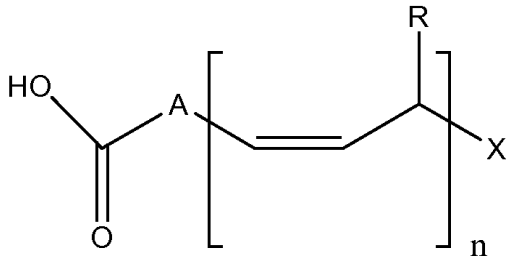
Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar 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

Procedimiento para la producción de ácido grasos (poli)insaturados utilizando microalgas

CAMPO DE LA INVENCIÓN

La presente invención se refiere a un procedimiento que es ventajosamente industrial y en continuo para la obtención de ácidos grasos con interés farmacológico y nutricional que comprende las etapas de:
- alimentación de un gas que comprende al menos CO_2, tal como los gases de efecto invernadero, a un reactor que contiene un cultivo que comprende al menos una especie de microalga capaz de realizar la fotosntesis;
- realización del proceso de la fotosíntesis por la especie de microalga a partir del suministro de CO_2, produciendo una biomasa que contiene un compuesto de fórmula general (I):



- extracción del compuesto de fórmula general (I) de la biomasa obtenida; y
- concentración y/o purificación del compuesto de fórmula general (I).

Además, se describen en el presente documento compuestos con interés farmacológico y nutricional obtenidos a través del procedimiento de la invención que utiliza microalgas y dióxido de carbono como fuente para obtenerlos.

ESTADO DE LA TÉCNICA ANTERIOR

Las enfermedades cardiovasculares (ECV) son la principal causa de muerte en todo el mundo. Cada año mueren más personas por enfermedades cardiovasculares que por cualquier otra causa. Se calcula que en 2005 murieron por esta causa 17,5 millones de personas, lo cual representa un 30% de todas las muertes registradas en el mundo; 7,6 millones de esas muertes se debieron a la cardiopatía coronaria, y 5,7 millones a los accidentes vasculares cerebrales (AVC). Las muertes por ECV afectan por igual a ambos sexos, y más del 80% se producen en países de ingresos bajos y medios. Se calcula que en 2015 morirán cerca de 20 millones de personas por ECV, sobre todo por cardiopatías y AVC, y se prevé que sigan siendo la principal causa de muerte.

Los ataques al corazón y los accidentes vasculares cerebrales (AVC) suelen ser fenómenos agudos causados principalmente por obstrucciones que impiden que la sangre fluya hacia el corazón o el cerebro. La causa más frecuente es la formación de depósitos de grasa en las paredes de los vasos sanguíneos que irrigan el corazón y el cerebro. Los AVC también pueden deberse a hemorragias en los vasos sanguíneos cerebrales o coágulos de sangre.

Las causas de las ECV están bien definidas y son bien conocidas. Las causas más importantes de cardiopatía y AVC son los llamados "factores de riesgo modificables": dieta poco saludable, inactividad física y consumo de tabaco. Los efectos de la dieta poco saludable y de la inactividad física pueden manifestarse como "factores de riesgo intermedios": aumento de la tensión arterial y del azúcar y los lípidos en la sangre, sobrepeso y obesidad. Los principales factores de riesgo modificables son responsables de aproximadamente un 80% de los casos de cardiopatía coronaria y accidentes vasculares cerebrales.

También hay una serie de factores subyacentes de las enfermedades crónicas, es decir, "las causas de las causas", que son un reflejo de las principales fuerzas que afectan los cambios sociales, económicos y culturales: la globalización, la urbanización y el envejecimiento de la población. Otros factores que afectan las ECV son la pobreza y el estrés.

Al menos un 80% de las muertes prematuras por cardiopatía y AVC podrían evitarse con una dieta saludable, actividad física regular y abandono del consumo de tabaco. Es posible reducir el riesgo de ECV realizando actividades físicas de forma regular; evitando la inhalación activa o pasiva de humo de tabaco; consumiendo una dieta rica en frutas y verduras; evitando los alimentos con muchas grasas, azúcares y sal, y manteniendo un peso corporal saludable. La forma de prevenir y controlar las ECV es a través de una acción global e integrada:

Una acción global requiere la combinación de medidas que traten de reducir el riesgo total entre la población y las estrategias dirigidas hacia individuos con alto riesgo o los que ya padecen la enfermedad.

Como ejemplos de intervenciones poblacionales para reducir las ECV se encuentran las políticas globales de control del tabaco, los impuestos para reducir la ingesta de alimentos ricos en grasas, azúcares y sal, la creación de vías para peatones y bicicletas con el fin de fomentar la actividad física, y el suministro de comidas saludables en los comedores escolares. Las estrategias integradas se centran en los principales factores de riesgo comunes a varias enfermedades crónicas, tales como las ECV, la diabetes y el cáncer: dieta no saludable, inactividad física y consumo de tabaco. En este contexto, véase, por ejemplo: *http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/es/index.html*

De acuerdo con lo comentado hasta ahora, una estrategia integrada sería fomentar el consumo de ácidos grasos omega-3 (referidos de aquí en adelante simplemente como "omega-3"); se ha demostrado experimentalmente que el consumo de grandes cantidades de omega-3 aumenta considerablemente el tiempo de coagulación de la sangre, lo cual explica por qué en comunidades que consumen muchos alimentos con omega-3 (esquimales, japoneses, etc.) la incidencia de enfermedades cardiovasculares es sumamente baja; véase "Marine oils as a source of omega-3 fatty acids in the diet: how to optimize the health benefits", Uauy Dagach, R : Valenzuela, A. Prog-Food-Nutr-Sci. 1992; 16(3): 199-243; "Fish Consumption, Fish OH, Omega-3 Fatty Acids, and Cardiovascular Disease", Penny M. Kris-Etherton, PhD, RD; William S. Harris, PhD; Lawrence J. Appel, MD, MPH, for the Nutrition Committee, Circulation. 2002;106:2747-2757; "The Effect of Dietary {omega}-3 Fatty Acids on Coronary Atherosclerosis", Clemens von Schacky, MD; Peter Angerer, MD; Woífgang Kothny, MD; Karl Theisen, MD; and Harald Mudra, MD , Annals of Internal Medicine, 6 April 1999/Volumen 130 Fascículo 7/Páginas 554-562.

Algunas experiencias sugieren también que el consumo de omega-3 tiene efectos benéficos sobre el cerebro. Altas cantidades podrían disminuir los efectos de la depresión "Omega 3 Fatty Acids in Bipolar Disorder", Andrew L. Stoll, Arch Gen Psychiatry. 1999; 56:407-412; "Addition of Omega-3 Fatty Acid to Maintenance Medication Treatment for Recurrent Unipolar Depressive Disorder", Boris Nemets, Am. J. Psychiatry 159:477- 479, Marzo 2002 e incluso grupos de niños en edad escolar aumentaron notablemente su rendimiento después de ingerir pastillas con aceite de pescado (rico en omega-3).

Sin embargo, debe de tenerse cuidado al ingerir aceites de pescado como suplemento alimenticio, por el riesgo de consumir cantidades peligrosas de dioxinas, mercurio y otros metales pesados presentes en muchos pescados.

Las fuentes más ricas en Omega-3 son los peces de agua fría, incluyendo el salmón, que supuestamente tendría el más bajo nivel de contaminación. Hay otras fuentes importantes como los pescados azules, entre éstos la sardina, que tiene una proporción de 1:7 entre omega-6 y omega-3.

La mejor alternativa en el mundo vegetal está en las semillas de cáñamo, ya que mantiene un porcentaje perfecto de omega-6 y omega-3: 3 partes de omega-6 por una parte de omega 3 (3/1); además, son económicas en tiendas de alimentos de animales, pero tienen el inconveniente de poseer una cáscara muy dura, por lo que su consumo resulta muy desagradable.

Los compuestos de ácidos grasos omega-3 pueden utilizarse para reducir triglicéridos como alternativa a un fibrato y añadido a una estatina, en pacientes con hiperlipidemia combinada (mixta) no controlada con una estatina sola. La concentración de triglicéridos superior a 10 mmol/l se asocia a pancreatitis aguda; por consiguiente, al reducir la concentración, se reduce el riesgo. Debe tenerse en cuenta el contenido graso de los componentes de ácidos grasos omega-3 (incluyendo sus excipientes) durante el tratamiento de la hipertrigliceridemia.

Los ácidos grasos omega-3 son conocidos como *ácidos grasos esenciales* ya que el organismo humano no los produce por sí mismo. Químicamente son ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs, de las siglas en inglés de "Poly-Unsaturated Fatty Acids") de cadena larga que presentan múltiples dobles enlaces carbono-carbono, con el primero de sus dobles enlaces en el tercer carbono desde el grupo metilo de terminación.

Estos ácidos omega-3 son conocidos por tener funciones anti-inflamatorias (mejorando la respuesta inmune) y son efectivos en la prevención y tratamiento de ciertas enfermedades cardiacas, para controlar el contenido en triglicéridos de la sangre y para prevenir ataques cardiacos, trombos y enfermedades similares, además de tener efectos beneficiosos sobre el sistema nervioso y el sistema digestivo. Se han realizado numerosos estudios en los que estos ácidos grasos esenciales pueden beneficiar a pacientes con artritis, presión arterial alta, neuro-dermatitis y otras enfermedades.

Aunque sólo estamos empezando a comprender las funciones biológicas de estos PUFAs, su impacto sobre la salud los convierte en nutrientes críticos y está surgiendo un consenso general de que han de convertirse en suplementos diarios en toda dieta. En respuesta, en parte a estos resultados clínicos, muchas instituciones y autoridades internacionales ahora recomiendan un incremento en el consumo diario de estos compuestos.

Este repentino interés a nivel farmacéutico y nutricional ha provocado una explosión de la demanda de PUFAs, que unido a la insuficiente oferta por parte de las fuentes tradicionales y la inadecuada provisión de PUFAs de elevada

pureza para usos biomédicos (calidad nutraceutica) ha llevado a la búsqueda de fuentes alternativas, tales como hongos y bacterias.

Además del grupo de ácidos grasos que comprenden el complejo omega-3, se consideran también de vital importancia los que comprenden el grupo de omega-7 y 9. El omega-7 o ácido palmitoleico es muy beneficioso para la piel y las mucosas, y está presente en concentraciones considerables en ambos tejidos. Se trata de un ácido graso monoinsaturado presente en una proporción del 28% en el aceite de un arbusto conocido con el nombre de espino amarillo (*Hippophae rhamnoides*). Esta planta crece en China y en la costa Atlántica de Europa en forma de arbusto y de ella se utilizan sus bayas (semillas y pulpa) para la elaboración del aceite. Tradicionalmente, el aceite del espino amarillo se ha utilizado para tratar diversas enfermedades epiteliales.

Las funciones que desempeña el omega-7 en la piel y las mucosas son:
• Antiinflamatoria: ayuda a paliar o mejorar los síntomas de determinadas afecciones de la piel, tales como dermatitis, eccema y psoriasis, y afecciones de las mucosas, tales como úlceras gástricas y pépticas, y actúa en inflamación vaginal, entre otras afecciones.
• Analgésica suave: actúa sobre el dolor causado por las afecciones en la piel y en las mucosas.
• Antioxidante: protege frente a determinadas sustancias, tales como los radicales libres.
• Nutriente: tanto de la piel como de las mucosas.

Los ácidos grasos omega-9 (ω-9) son un tipo de ácido graso insaturado encontrado en algunos alimentos. Algunos estudios sugieren que estos ácidos grasos están relacionados con el cáncer de mama (*Valeria Pala, Vittorio Krogh, Paola Muti, Véronique Chajés, Elio Riboli, Andrea Micheli, Mitra Saadatian, Sabina Sieri, Franco Berrino (2001)*. Los efectos biológicos del ω-9 están generalmente mediados por sus interacciones con los ácidos grasos omega-3 y omega-6; tienen un doble enlace C=C en la posición ω-9. Algunos ω-9 son componentes comunes de grasa animal y de aceite vegetal.

Dos importantes ácidos grasos ω-9, son:
· Ácido oleico (18:1 ω-9) que es el componente principal del aceite de oliva y de otras grasas monoinsaturadas.
· Ácido erúcico (22:1 ω-9) encontrado en semilla de colza (*Brassica napus*), semillas de alhelí (*Erysimum*), semillas de mostaza (*Brassica*). Las semillas de colza con alto contenido de ácido erúcico sirven comercialmente para uso en pinturas y barnices como secante y agente protector.

A diferencia de los ácidos grasos ω-3 y ω-6, los ácidos grasos ω-9 no se clasifican como ácidos grasos esenciales (EFA, acrónimo en inglés). Eso se debe a que pueden ser sintetizados por el cuerpo humano por lo que no son esenciales en la dieta, y a que la falta de un doble enlace ω-6 los lleva a participar en las reacciones que producen eicosanoides.

Bajo severas condiciones de privación de los EFA, los mamíferos alargan y desaturan ácido oleico para producir ácido eicosatrienoico (20:3 ω-9)[2]. Esto también ocurre en menor extensión en vegetarianos y semivegetarianos (*Phinney, SD, RS Odin, SB Johnson and RT Holman (1990).*

La comercialización de los ácidos grasos con propiedades farmacológicas interesantes procedentes de aceites de microalgas depende de su competitividad con los aceites de pescado. La elección de una fuente en particular se basa en la concentración deseada de los PUFAs, la disponibilidad de materia prima, y de la presencia y la naturaleza de las impurezas.

Normalmente, los ácidos grasos omega-3 son consumidos de dos formas: mediante la dieta diaria y/o como suplemento alimenticio. A día de hoy, la principal fuente de ácidos grasos omega-3 en la dieta proviene principalmente del pescado. Sin embargo, ante la demanda creciente tanto a nivel farmacéutico como nutritivo, que sumada a una serie de inconvenientes que presentan este tipo de aceites, que en muchos casos podría ser resuelta con el uso de otro tipo de aceites (microalgas), se plantea la necesidad de abrir una vía de investigación en fuentes alternativas. En este contexto, las microalgas se presentan como una fuente alternativa, tanto en términos de producción global como en la calidad del producto.

De acuerdo a lo anterior, a continuación se enumeran algunos de los inconvenientes del aceite de pescado y se expone a su vez en qué medida el producto extraído de las microalgas supone una solución a cada una de estos inconvenientes:

- Los aceites de pescado contienen cantidades variadas de ácidos grasos omega-3 en general; sin embargo, la concentración de ácidos grasos requeridos es bastante baja, puesto que sólo una porción de los triglicéridos contiene dichos ácidos grasos, por lo que estos aceites son menos beneficiosos para la salud, con elevado contenido en grasas y calorías.

Los aceites de las algas, sin embargo, contienen niveles considerablemente más altos de los ácidos deseados,

presentando unos perfiles lipídicos más sencillos y homogéneos. Estos organismos son ricos en proteínas, oligoelementos, vitaminas, antioxidantes, etc., y pueden ser utilizados como fuentes de macronutrientes y micronutrientes en formulaciones de alimentos.

- Problemas de oxidación: el aceite de pescado contiene cantidades de ácidos grasos de cadena corta y otros altamente insaturados, además de los omega 3. Los dobles enlaces de las cadenas de ácidos grasos tanto de los omega-3 como de otros PUFAs en los aceites de pescado son susceptibles de oxidarse por el oxígeno y otros agentes oxidantes. El deterioro del aceite por la oxidación o por la acción de bacterias durante el almacenamiento puede provocar la aparición de compuestos de bajo peso molecular, tales como cetonas y aldehídos, provocando colores, sabores y/u olores indeseables, disminuyendo el valor comercial del aceite.

- Los aceites de pescado también son una excelente fuente de vitamina A y de D (sobre todo el aceite de hígado de bacalao), pero esto puede suponer un problema si se excede la dosis diaria recomendada de vitaminas A y D para poder consumir cantidades terapéuticas de EPA y DHA. Estas vitaminas son solubles en grasa, por lo que es posible que un exceso en la dieta (muy por encima de la dosis diaria recomendada) se acumule en el organismo y llegue a ser dañino.

- El aceite de pescado oscila en precio y calidad (estacional). Sin embargo, para el caso del aceite procedente de las microalgas la producción puede llevarse a cabo durante todo el año, ya que normalmente no hay dependencia de temporada (climáticas) ni nutricional, sobre todo si el sistema de cultivo es en circuito cerrado (en los fotobioreactores se pueden controlar dichas variables).

- Puede presentar contaminantes, tales como pesticidas y metales pesados. Algunos medios piden precaución cuando se toma aceite de hígado de bacalao y otros suplementos procedentes del pescado debido a que pueden contener elevados niveles de toxinas cada vez más frecuentes en peces, tales como mercurio y PCBs.

Desgraciadamente, actualmente la mayoría del pescado se encuentra contaminado con mercurio, otros metales tales como cadmio, plomo, cromo o arsénico, PCB, dioxinas y otras toxinas. La mayor preocupación es la contaminación por mercurio, metal muy tóxico para el ser humano. Solamente en Estados Unidos se vierten 40 toneladas de mercurio anuales en la atmósfera, que la lluvia deposita posteriormente en el agua. Aunque en España no se hable de ello por la relevancia que tiene la industria pesquera en la economía, en otros países las autoridades sanitarias ya han alertado de este problema. En Estados Unidos la EPA (Agencia para la Protección Medioambiental) recomienda a las mujeres embarazadas evitar la ingesta de pescado, tal como atún, pez espada y otros pescados de gran tamaño, ya que el metil-mercurio traspasa fácilmente la barrera placentaria). Sin embargo, los beneficios para la salud de los peces a otros grupos de población se consideran superiores a los riesgos.

Además, los pesticidas y herbicidas utilizados en la agricultura convencional, así como otras muchas industrias, contribuyen a la contaminación por mercurio de mares y océanos.

Obviamente, el cultivo de algas, al tratarse de un cultivo controlado en un sistema cerrado, no contiene mercurio ni ningún otro tipo de metal pesado o contaminante.

- Olor característico. Los aceites de pescado contienen ácidos grasos que pueden ser obtenidos como subproductos en la producción de productos, tales como carnes de pescado bajas en grasas. Los procedimientos empleados para la extracción y obtención de aceites de pescado suelen provocar la formación de aminas volátiles, las cuales son sustancias que presentan un olor bastante desagradable (trimetilamina, dimetilamina y amonio). La trimetilamina es una de las principales aminas volátiles asociadas con el olor típico a pescado. Éste es producido por una conversión enzimática del óxido de trimetilamina, el cual es un compuesto osmoregulador que se encuentra en muchos peces. Después de la extracción y el almacenamiento, la generación y el mezclado de este olor desagradable no se puede evitar.

Para prevenir la emisión de dichos olores existen procedimientos convencionales que implican tratamientos de refinado, tales como la desacidificación y desodorización, para eliminar impurezas. Sin embargo, estos procedimientos convencionales pueden eliminar algunos compuestos causantes del olor, pero es imposible eliminar completamente las aminas volátiles, los aldehídos y cetonas, dado que estos compuestos son el resultado de degradaciones mayores posteriores que tienen lugar durante el almacenamiento. Además, estos compuestos presentan un umbral de olor muy bajo, pudiendo ser detectados rápidamente a muy bajas concentraciones.

- Gran parte del aceite de pescado se destina a la elaboración de mantequilla o margarina, por lo tanto, esta fuente no es suficiente para competir en varios mercados a la vez.

- Presenta un complejo perfil de ácidos grasos (hasta 50 ácidos grasos diferentes pueden estar presentes). Para el caso del aceite de hígado de bacalao existe casi un 30% de ésteres que no interesan y que tienen que separarse del compuesto buscado, lo que dificulta el eficiente aislamiento de un PUFA en particular (EPA en este caso) mediante

procedimientos sencillos de separación. En contraste con el aceite de pescado, muchas microalgas y en especial las especies utilizadas en la presente invención presentan un elevado porcentaje en contenido de EPA sin la presencia de PUFAS muy similares.

Las tecnologías disponibles actualmente para purificar PUFAs individuales, tales como el EPA a partir de concentrados de ésteres de aceites de pescado, se basan en las diferencias fisicoquímicas en los compuestos. Estas diferencias suelen ir asociadas con el número de dobles enlaces y la longitud de la cadena. Cuantos más compuestos similares al compuesto requerido que estén presentes en la muestra, más costará aislar el PUFA. Generalmente, los aceites de pecado contienen una mezcla de muchos ácidos grasos metabólicamente activos, por lo que se necesitan nuevas fuentes que aporten un único ácido graso bioactivo en concentraciones altas. En este contexto, las microalgas presentan un perfil de ácidos grasos mucho más sencillo que el del aceite de pescado, por lo que para una misma técnica de purificación es posible obtener un mayor rendimiento y pureza si se utiliza un extracto de microalgas en lugar de aceite de pescado.

Por lo tanto, tal como se ha descrito anteriormente, son necesarios procedimientos más sencillos y menos contaminantes para producir dichos compuestos de interés farmacológico y nutricional que los producidos a partir de aceite de pescado. En este mismo sentido, la presente invención describe un nuevo procedimiento para la producción de estos compuestos de una manera sencilla, no contaminante, ecológica, con alto rendimiento y rentabilidad en comparación con los medios utilizados en la actualidad.

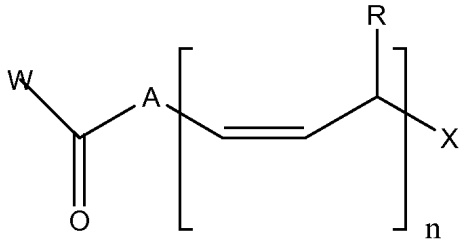
El documento de patente EP 2135939 (STROIAZZO-MOUGIN, B.A.J.; 23 de diciembre de 2009) da a conocer un procedimiento para obtener ácidos grasos de interés farmacológico y nutricional que comprende las etapas de:
a) alimentar un gas o una mezcla de gases que comprende CO_2 en un reactor que contiene un cultivo que comprende al menos una especie de microalga capaz de la fotosíntesis,
b) fotosíntesis por la especie de microalga que utiliza el CO_2 suministrado, produciendo una biomasa que contiene el compuesto de fórmula general (I),
c) extracción del compuesto de la fórmula general (I) a partir de la biomasa obtenida en la etapa b),
d) concentración y/o purificación del compuesto de fórmula general (I) a partir del extracto obtenido en la etapa (c),
caracterizado porque, después de la etapa de fotosíntesis, una parte del cultivo se extrae del reactor, que, a continuación, se separa en
una fracción sólida que contiene biomasa, cuya biomasa posteriormente se somete a la etapa de extracción del compuesto de fórmula general (I),
y una fracción de fase líquida que contiene carbonatos y/o bicarbonatos, cuya fracción de fase líquida se devuelve al menos parcialmente al reactor.

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCIÓN

La presente invención se refiere a un procedimiento acelerado, con las ventajas de ser industrial y en continuo, para la obtención de ácidos grasos de interés farmacológico y nutricional. Además, en el presente documento se describen compuestos de interés farmacológico y nutricional obtenidos a través del procedimiento industrial y en continuo que utiliza microalgas y dióxido de carbono, preferiblemente procedente de emisiones industriales, tales como una fuente para obtenerlos.

Por otra parte, en el presente documento se describe el uso de compuestos obtenidos para prevenir enfermedades cardiovasculares, del sistema nervioso, autoinmunes y del sistema digestivo...

Por lo tanto un primer aspecto de la presente invención se refiere a un procedimiento para la obtención de ácidos grasos de interés farmacológico y nutricional que comprende las etapas de:
a) alimentación de un gas o mezcla de gases que comprenden CO_2 a un reactor que contiene un cultivo que comprende al menos una especie de microalga capaz de realizar la fotosíntesis;
b) fotosíntesis por la especie de microalga utilizando el CO_2 suministrado, produciendo una biomasa que contiene un compuesto de fórmula general (I):



en la que:
A y X son iguales o diferentes, de forma independiente, y se seleccionan entre alquilo C_3-C_{10}, alquenilo C_1-C_{10},

cicloalquilo C_1-C_7 o cualquier grupo arilo sustituido o no sustituido;
n es un número entero de 1 a 10;
R se selecciona entre H, un grupo hidroxilo, alquilo C_1-C_4, alquenilo C_1-C_3, cicloalquilo C_3-C_7 o cualquier otro grupo arilo sustituido o no sustituido;
W se selecciona del grupo que consiste en un grupo hidroxilo, una molécula de glicerol unida a un compuesto de fórmula general (I) adicional formando un diglicérido, o una molécula de glicerol unida a dos compuestos de fórmula general (I) adicionales formando un triglicérido;
y sus sales, preferiblemente cualquier sal farmacéuticamente aceptable, solvatos y profármacos del mismo;
c) extracción del compuesto de fórmula general (I) de la biomasa obtenida en la etapa b); y
d) concentración y/o purificación del compuesto de fórmula general (I) obtenido en la etapa c); caracterizado porque tras las etapas de fotosíntesis, se extrae del reactor entre un 5 y un 100% del cultivo, que, a continuación, se separa en una fracción sólida que contiene biomasa, la cual, a continuación, se somete a la etapa de extracción del compuesto de fórmula general (I), y una fracción líquida que contiene carbonatos y/o bicarbonatos, que, a continuación, se separan de la fracción líquida para retornar, al menos parcialmente, la fracción líquida sustancialmente exenta de carbonatos y/o bicarbonatos.

De manera general, el procedimiento para la obtención del ácido graso con actividad farmacológica y nutricional de fórmula general (I) comprende las etapas de:
- captación de un gas o mezcla de gases que contiene CO_2;
- asimilación y transformación del CO_2 por microalgas, produciendo una biomasa que contiene el compuesto de fórmula general (I);
- tratamiento mecánico del medio de cultivo;
- tratamiento mecano-químico de la fase acuosa;
- extracción del compuesto de fórmula general (I); y
- concentración y/o purificación del compuesto de fórmula general (I).

Etapa de captación de un gas o mezcla de pases que contiene CO_2:

En una realización preferida, la etapa de captación de un gas o mezcla de gases que contienen CO_2, tales como los gases con efecto invernadero, comprende la alimentación endógena y/o exógena de tal gas o mezcla de gases a un reactor de tipo fotosintético, en el cual hay presente al menos una especie de microalga capaz de realizar la fotosíntesis.

En este mismo procedimiento, a lo largo de la presente memoria descriptiva, por "gases de efecto invernadero" se entenderá cualquier gas que comprenda CO_2. Normalmente, estos gases consisten en una mezcla que contiene CO_2 y otros potenciales componentes, tales como NO_x, CH_4 u otros, en cualquier combinación. Sin embargo, lo único realmente necesario para el procedimiento de la invención es que el gas contenga al menos CO_2.

De esta manera, estos gases que son tan perjudiciales para el medio ambiente pasan a formar parte de los nutrientes añadidos al reactor para la "alimentación" de las microalgas en el interior.

Además, los gases con efecto invernadero añadidos de manera exógena provienen normalmente de la atmósfera o de la industria y los añadidos de manera endógena provienen de los gases generados en el procedimiento desarrollado en la presente invención.

Dependiendo de la composición de estos gases, opcionalmente experimentan un tratamiento previo antes de ser introducidos en el sistema, en los fotobioreactores; básicamente este tratamiento consiste en al menos uno de los siguientes: eliminación sustancial de SO_x, de NO_x y humedad y adecuación de la temperatura de los gases a 30-40°C.

Ventajosamente, el procedimiento de la presente invención es un procedimiento industrial en continuo que funciona en condiciones axénicas, es decir, aislado de la contaminación exterior.

Etapa de asimilación y transformación del CO_2 por las microalgas, produciendo una biomasa que contiene el compuesto de fórmula general (I)

Según otra realización preferida, la etapa de asimilación y transformación del CO_2 comprende el proceso de la fotosíntesis de acuerdo con la naturaleza fotosintética de las microalgas; para ello el reactor que las contiene está expuesto de manera continua a la luz, ya sea natural o artificial, o cualquier combinación de ambas.

De esta manera, las microalgas en los reactores son capaces de asimilar el carbono presente en el dióxido de carbono. De acuerdo con esta asimilación y gracias al aporte, preferiblemente, de otros nutrientes en menores proporciones, tales como nitratos, fosfatos, metales en trazas, las microalgas son capaces de generar estructuras más complejas: proteínas, carbohidratos y lípidos, entre otros, aunque éstos son los mayoritarios. Dentro del grupo

que consiste en lípidos están los compuestos de fórmula general (I), de manera que este CO_2 se transforma por la acción fotosintética de las microalgas en biomasa que contiene el compuesto de fórmula general (I), lista para pasar a la siguiente etapa del procedimiento.

Además, para mejorar la eficiencia de captación de estos gases de efecto invernadero por parte de las microalgas, se puede trabajar en el interior de los reactores fotosintéticos con un régimen turbulento. Esta turbulencia tiene como principal objetivo el forzar que cada individuo (cada microalga) esté en contacto con la luz el máximo tiempo posible. Además, la turbulencia ayuda a prevenir la formación de ensuciamiento o "fouling". Para generar las turbulencias puede utilizarse cualquier procedimiento apto para este fin, aunque habitualmente se insufla aire, N_2, CO_2, CO, NO_x, gases de combustión o cualquier combinación de los mismos.

Por otra parte, las microalgas presentes en el reactor se seleccionan preferiblemente entre un grupo que consiste en: Clorofíceas, Bacilariofíceas, Dinofíceas, Criptofíceas, Crisofíceas, Haptofíceas, Prasinofíceas, Rafidofíceas, Estigmatofíceas o cualquier combinación de las mismas. Estas microalgas son las que han demostrado ser capaces de producir satisfactoriamente los ácidos grasos de interés farmacológico y nutricional obtenidos según el procedimiento de la invención.

Preferiblemente, las microalgas se seleccionan del grupo que consiste en *Dunaliella salina, Tetraselmis galvana, Tetraselmis suecica, Isochrysis galbana, Nannochloropsis gaditana* o *Nannochloris,* en cualquier combinación de las mismas.

De acuerdo con lo anterior, el carbono proveniente de los gases de efecto invernadero se transforma en esta etapa, entre otras sustancias, en ácidos grasos de fórmula general (I), a continuación de lo cual se procede a la siguiente etapa.

Etapa de tratamiento mecánico del medio de cultivo

La etapa de tratamiento mecánico del medio de cultivo comprende las subetapas de:
- vaciado o desalojo, al menos parcial, del cultivo del reactor;
- separación del cultivo desalojado en una fracción sólida que contiene biomasa y una fracción líquida que contiene carbonatos y/o bicarbonatos;

En la subetapa de vaciado, se desaloja entre el 5 y el 100% del medio de cultivo, preferiblemente, entre un 5 y un 50% y, aún más preferiblemente, el 10% del medio de cultivo, de tal manera que el resto se mantiene en el reactor para que se siga captando y convirtiendo el CO_2 de manera continua mediante las microalgas como medio biológico para realizar tal fin. Es importante destacar que este % de extracción es repuesto, de un modo preferiblemente rápido, con agua sustancialmente sin algas y sin carbonatos o con una concentración muy baja de éstos, procedente de las etapas de separación descritas a continuación; la cantidad de algas presentes en el agua que se devuelve depende de la eficiencia de separación de cada procedimiento en concreto.

Según otra realización preferida, la subetapa de separación del cultivo desalojado en una fracción sólida que contiene biomasa y una fracción líquida que contiene carbonatos y/o bicarbonatos comprende al menos una etapa de extracción mecánica seleccionada entre filtración, centrifugación, floculación, electrocoagulación, ultrasonidos, evaporación, decantación o cualquier combinación de las mismas. De esta manera, se separa la fase acuosa de la biomasa.

Según otra realización preferida opcional, tras la etapa de vaciado se lleva a cabo una fase de acidificación del medio de cultivo desalojado o extraído del reactor. En esta subetapa opcional, el medio de cultivo desalojado o extraído se acumula en un tanque de acumulación, en el que se adiciona al menos un agente acidificante hasta alcanzar un pH entre 3,5 y 8, preferiblemente entre 6 y 8. El agente acidificante se selecciona del grupo que consiste en CO_2 (este CO_2 puede ser de botella o industrial), una mezcla de CO_2 y aire, ácidos fuertes o débiles o cualquier combinación de los mismos. Preferiblemente, el agente acidificante es una mezcla de CO_2 con aire. De esta manera se consigue que el medio proveniente del reactor, el cual es rico en CO_2 y bicarbonato, no precipite (mediante la no formación de carbonatos) y así se evitan fenómenos de adherencia y fouling.

Etapa de tratamiento mecano-químico de la fase acuosa

Según otra realización preferida, la etapa de tratamiento químico de la fase acuosa comprende las siguientes subetapas:
- conversión química del CO_2 que está presente en la fracción líquida resultante del desalojo al menos parcial del cultivo del reactor en forma de carbonatos y/o bicarbonatos en disolución, en sus correspondientes formas carbonatadas precipitadas mediante la adición de un álcali, y
- recirculación al menos parcial de la fase líquida, ya sustancialmente exenta de carbonatos y/o bicarbonatos en disolución, al reactor;

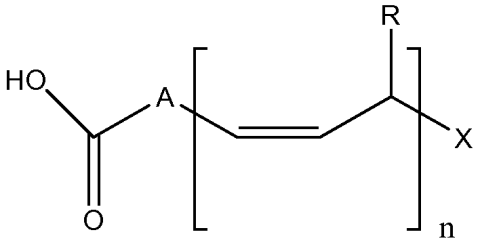
Por lo tanto, según otra realización preferida, la subetapa de conversión química del CO_2 comprende hacer llegar el agua resultante de la subetapa de separación de la biomasa de la fase acuosa a un tanque de clarificado, en el que se acumula la fase acuosa que comprende agua, nutrientes en disolución, CO_2, carbonato y bicarbonato, todos ellos disueltos. Una vez que la fase acuosa se encuentra en el tanque de clarificado, se añade al menos un medio básico, para provocar la precipitación en forma de carbonatos de las especies que se encuentran en equilibrio (CO_2, bicarbonato y carbonato). De este modo, es posible eliminar aún más el CO_2, ya que transforma en sales carbonatadas no contaminantes utilizadas en distintas industrias.

Una vez que el agua está libre de CO_2, precipitado en forma de carbonato y bicarbonato, se lleva a cabo la subetapa de recirculación del agua al reactor que contiene el medio de cultivo.

De este modo, en este punto del procedimiento, se ha llevado a cabo una doble eliminación o conversión del CO_2: la captación o fijación biológica llevada a cabo por las microalgas presentes en el medio de cultivo, y una conversión o transformación química como consecuencia de esta precipitación. Al hacer esto, el agua de cultivo contiene incluso menos CO_2, bicarbonato y carbonato y puede captar más CO_2 hasta sobrepasar el límite de solubilidad. Durante el siguiente ciclo se vuelve a realizar el procedimiento que acabará con la precipitación de gran parte de este CO_2 que se ha introducido. Si esta precipitación forzada no tiene lugar, gran parte del CO2 se quedará disuelto en la fase acuosa que se devuelve el cultivo. Por lo tanto a la hora de introducir CO_2 de nuevo al cultivo, la capacidad de disolución será menor, ya que ya tiene CO_2 en la disolución.

Etapa de extracción del compuesto de fórmula general (I):

Según otra realización preferida, la etapa de extracción de un compuesto de fórmula general (I),



se refiere al proceso en el cual, una vez producidos estos compuestos por las microalgas, se extraen de la biomasa obtenida en la etapa de asimilación y transformación del CO_2. La biomasa obtenida tiene normalmente un contenido de humedad comprendida entre el 1 y el 99%, preferiblemente entre el 65-80%.

Una vez se dispone de la biomasa, se extrae el compuesto de formula general (I). Esta extracción puede realizarse de dos formas:
- Extracción de la fracción lipídica completa; en este caso, como consecuencia de la polaridad, se extrae toda la fracción apolar.
- Extracción selectiva del compuesto de interés

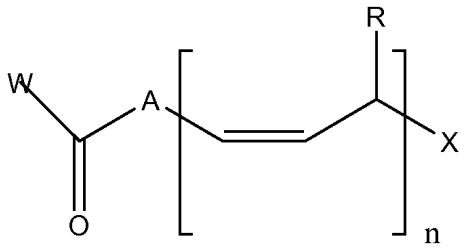
La extracción de la fracción lipídica o la extracción selectiva del compuesto de interés se lleva a cabo mediante uno, varios o una combinación de los siguientes procedimientos:
- Extracción con disolventes seleccionados del grupo que consiste en isopropanol, hexano, heptano, metanol, etanol, diclorometano, acetona, agua, cloroformo, acetato de butilo, tetrahidrofurano, 2-metiltetrahidrofurano, butanol, tolueno, benceno o cualquier combinación de los mismos;
- Extracción utilizando como disolvente el CO_2 en condiciones supercríticas: presión que consiste en de 100 a 300 bares, preferiblemente entre de 180 a 220 bares, siendo la temperatura de 25 a 350°C, preferiblemente de 40 a 80°C.

Antes de esta etapa de extracción, puede realizarse una subetapa para producir la lisis o rotura del alga. Esta subetapa previa puede llevarse a cabo mediante al menos una de las siguientes técnicas:
- Tratamiento por ultrasonidos: para ello se somete el alga a frecuencias comprendidas entre 100 y 1.000 Hz, preferiblemente entre 300 y 400 Hz, siendo el tiempo de esta aplicación entre 1 min y 25 min, preferiblemente entre 2-10 min.
- Homogeneización o cavitación: las microalgas se someten a una presión de entre 1 bar y 2.500 bares, preferiblemente entre 250 y 1.200 bares. Este procedimiento puede repetirse varias veces hasta producir la rotura celular; normalmente el número de ciclos está entre 1 y 5, preferiblemente 1.
- Tratamiento por disminución o aumento del pH. La rotura del alga se obtiene como consecuencia de un aumento del pH por encima de 9 (agentes básicos fuertes o débiles, orgánicos o inorgánicos) o por debajo de 6 (agentes ácidos fuertes o débiles, orgánicos o inorgánicos).

Etapa de concentración y/o purificación del compuesto de fórmula general (I):

Según otra realización preferida, la etapa de concentración y/o purificación del compuesto de fórmula general (I) se lleva a cabo mediante cualquier procedimiento adecuado para este fin, aunque preferiblemente mediante la utilización de al menos una de las técnicas que se seleccionan del grupo que consiste en destilación molecular o fraccionada, división enzimática, extracción supercrítica con CO_2, cristalización a bajas temperaturas, cromatografía de adsorción y precipitación con urea. La purificación se consigue como consecuencia de la concentración del producto en cuestión.

La descripción también se refiere a un compuesto de fórmula general (I) obtenido mediante el procedimiento descrito anteriormente. Dicho compuesto tiene la siguiente estructura:



en la que:
A y X son iguales o diferentes, de forma independiente, y se seleccionan entre alquilo C_3-C_{10}, alquenilo C_1-C_{10}, cicloalquilo C_1-C_7 o cualquier grupo arilo sustituido o no sustituido;
n es un número entero de 1 a 10;
R se selecciona entre H, un grupo hidroxilo, alquilo C_1-C_4, alquenilo C_1-C_3, cicloalquilo C_3-C_7 o cualquier otro grupo arilo sustituido o no sustituido;
W se selecciona del grupo que consiste en un grupo hidroxilo, una molécula de glicerol unida a un compuesto de fórmula general (I) formando un diglicérido, o una molécula de glicerol unida a dos compuestos de fórmula general (I) formando un triglicérido;
y sus sales, preferiblemente cualquier sal farmacéuticamente aceptable, solvatos y profármacos del mismo.

Preferiblemente, A y X pueden ser iguales o diferentes, de forma independiente, y se seleccionan entre alquilo C_1-C_8, alquenilo C_1-C_5 y cicloalquilo C_4-C_6.

Preferiblemente, n es un número entero seleccionado entre 1 y 7.

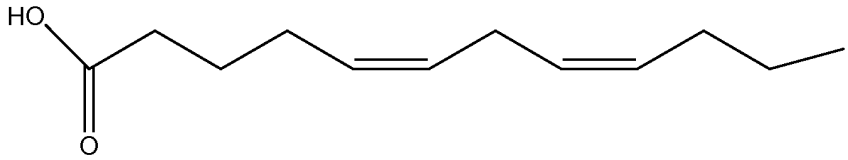
Preferiblemente, W es OH o un grupo glicerol unido a dos compuestos de fórmula general (I) formando un triglicérido.

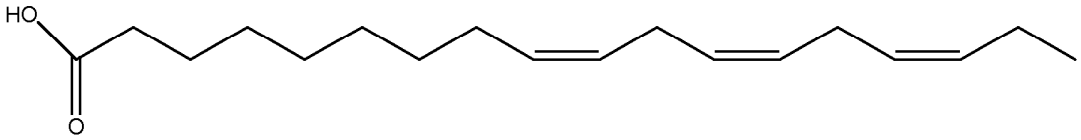
Preferiblemente, R se selecciona entre H, un grupo hidroxilo, alquilo C_1- C_4 y cicloalquilo C_4-C_6.

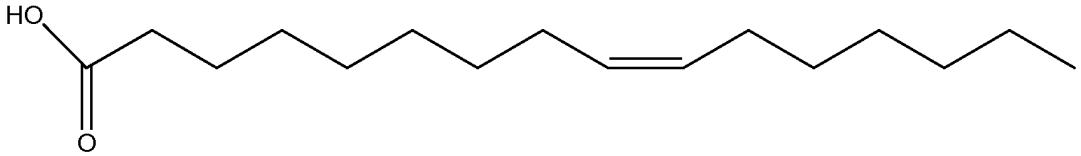
El término "alquilo" se refiere, en la presente invención, a radicales de cadena hidrocarbonada, lineales o ramificadas, que tienen de 1 a 10 átomos de carbono, preferiblemente de 1 a 4, y que se unen al resto de la molécula mediante un enlace sencillo, por ejemplo, metilo, etilo, *n*-propilo, *i*-propilo, *n*-butilo, *terc*-butilo, *sec*-butilo, n-pentilo, n-hexilo, etc. Los grupos alquilo se pueden sustituir opcionalmente por uno o más sustituyentes, tales como halógeno, hidroxilo, alcoxilo, carboxilo, carbonilo, ciano, acilo, alcoxicarbonilo, amino, nitro, mercapto y alquiltio.

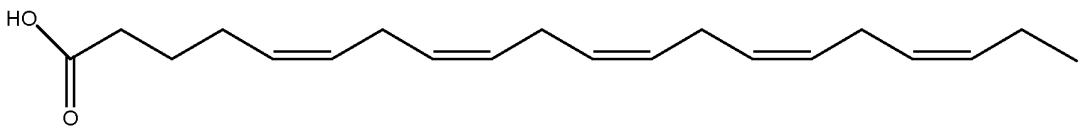
El término "alquenilo" se refiere a radicales de cadena hidrocarbonada que contienen uno o más dobles enlaces carbono-carbono, por ejemplo, vinilo, 1-propenilo, alilo, isoprenilo, 2-butenilo, 1,3-butadienilo, etc. Los radicales alquenilo pueden estar opcionalmente sustituidos por uno o más sustituyentes, tales como halo, hidroxilo, alcoxilo, carboxilo, ciano, carbonilo, acilo, alcoxicarbonilo, amino, nitro, mercapto y alquiltio.

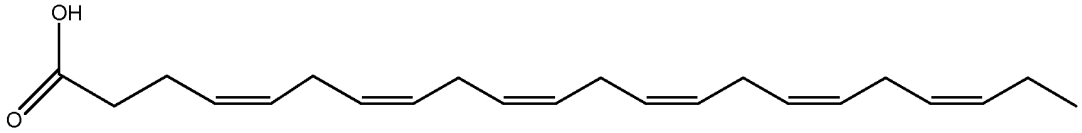
Preferiblemente, el compuesto de fórmula general (I) se refiere a un compuesto que se selecciona del siguiente grupo:

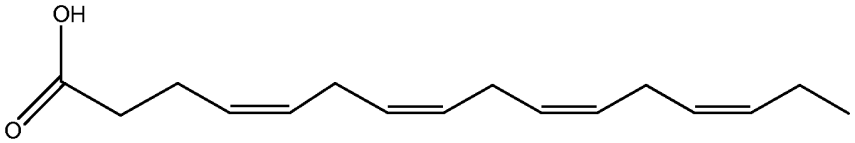


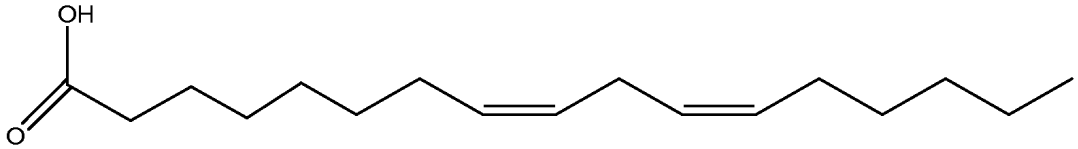












o un isómero, una sal farmacéuticamente aceptable, un profármaco o un solvato del mismo.

Los compuestos representados por la fórmula (I) pueden incluir isómeros, dependiendo de la presencia de enlaces múltiples, incluyendo isómeros ópticos o enantiómeros, dependiendo de la presencia de centros quirales. Los isómeros, enantiómeros o diastereoisómeros individuales y las mezclas de los mismos caen dentro del alcance de la presente invención, es decir, el término isómero también se refiere a cualquier mezcla de isómeros, tales como diastereómeros, mezclas racémicas, etc., incluyendo sus isómeros ópticamente activos o las mezclas de los mismos en distintas proporciones de los mismos. Los enantiómeros o diastereoisómeros individuales, así como sus mezclas, pueden separarse mediante técnicas convencionales.

Además, en el presente documento se decriben profármacos de los compuestos de fórmula (I). El término "profármaco", tal como se utiliza en el presente documento, incluye cualquier compuesto derivado de un compuesto de fórmula (I), por ejemplo: ésteres (incluyendo ésteres de ácidos carboxílicos, ésteres de aminoácidos, ésteres de

fosfato, ésteres de sulfonato de sales metálicas, etc.), carbamatos, amidas, etc., que al ser administrado a un individuo puede ser transformado directa o indirectamente en el compuesto de fórmula (I) en el individuo. Ventajosamente, este derivado es un compuesto que aumenta la biodisponibilidad del compuesto de fórmula (I) cuando se administra a un individuo o que potencia la liberación del compuesto de fórmula (I) en un compartimento biológico. La naturaleza de este derivado no es crítica, siempre y cuando pueda ser administrado a un individuo y proporcione el compuesto de fórmula (I) en un compartimento biológico de un individuo. Este profármaco se puede preparar mediante procedimientos convencionales conocidos por los expertos en la materia.

Los compuestos descritos en el presente documento pueden estar en forma cristalina, tales como compuestos libres o solvatos. En este sentido, el término "solvato", tal como se utiliza en el presente documento, incluye solvatos farmacéuticamente aceptables, es decir, solvatos de los compuestos de fórmula (I) que pueden ser utilizados en la preparación de un medicamento, y solvatos farmacéuticamente no aceptables, que pueden ser utilizados en la preparación de solvatos o sales farmacéuticamente aceptables. La naturaleza del solvato farmacéuticamente aceptable no es crítica, siempre y cuando sea farmacéuticamente aceptable. Específicamente, el solvato es un hidrato. Los solvatos pueden obtenerse mediante procedimientos convencionales de solvatación conocidos por los expertos en la materia.

Para su aplicación en terapia, los compuestos de fórmula (I), sus sales, profármacos o solvatos, se encuentran, preferiblemente, en una forma farmacéuticamente aceptable o sustancialmente pura, es decir, tienen un nivel de pureza farmacéuticamente aceptable, excluyendo los aditivos farmacéuticos normales, tales como diluyentes y portadores, y no incluyendo materiales considerados tóxicos a niveles de dosificación normales. Los niveles de pureza para el principio activo son preferiblemente superiores al 50%, y más preferiblemente, superiores al 70%, y todavía más preferiblemente, superiores al 90%. En una realización preferida, son superiores al 95% del compuesto de fórmula (I), o de sus sales, solvatos o profármacos.

Preferiblemente, el compuesto de fórmula general (I) se usa como fármaco.

Preferiblemente, el compuesto de fórmula general (I) se usa como complemento nutricional.

La descripción también se refiere a las composiciones farmacéuticas que comprenden al menos un compuesto descrito en el presente documento, un tautómero, una sal farmacéuticamente aceptable, un derivado o su profármaco, junto con un transportador un excipiente o un vehículo farmacéuticamente aceptable, para la administración a un paciente.

Preferiblemente, la composición farmacéutica comprende además otro principio activo.

Los adyuvantes y vehículos farmacéuticamente aceptables que pueden ser utilizados en estas composiciones son los adyuvantes y vehículos conocidos por los técnicos en la materia y utilizados habitualmente en la elaboración de composiciones terapéuticas.

En el sentido utilizado en esta descripción, la expresión "cantidad terapéuticamente efectiva" se refiere a la cantidad del agente o compuesto capaz de desarrollar la acción terapéutica determinada por sus propiedades farmacológicas, calculada para producir el efecto deseado y, en general, vendrá determinada, entre otros factores, por las características de los compuestos, incluyendo la edad y el estado del paciente, la gravedad de la alteración o trastorno, y de la forma y frecuencia de administración.

Los compuestos descritos en el presente documento, sus sales, profármacos y/o solvatos así como las composiciones farmacéuticas que los contienen, pueden ser utilizados junto con otros fármacos o principios activos adicionales para proporcionar una terapia de combinación. Dichos fármacos adicionales pueden formar parte de la misma composición farmacéutica o, alternativamente, pueden disponerse en forma de una composición separada para su administración simultánea o no simultánea de la composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I), o su sal, profármaco o solvato.

Preferiblemente, las composiciones farmacéuticas son adecuadas para la administración oral, en forma sólida o líquida. Las posibles formas para la administración son comprimidos, cápsulas, siropes o soluciones y pueden contener excipientes convencionales conocidos en el sector farmacéutico, tales como agentes agregantes (por ejemplo sirope, acacia, gelatina, sorbitol, tragacanto o polivinilpirrolidona), agentes de carga (por ejemplo lactosa, azúcar, almidón de maíz, fosfato de calcio, sorbitol o glicina), agentes disgregantes (por ejemplo almidón, polivinilpirrolidona o celulosa microcristalina) o un surfactante farmacéuticamente aceptable, tal como lauril sulfato de sodio.

Las composiciones para administración oral pueden prepararse mediante procedimientos convencionales de farmacia galénica, tales como mezcla y dispersión. Los comprimidos se pueden recubrir siguiendo procedimientos conocidos en la industria farmacéutica.

Las composiciones farmacéuticas se pueden adaptar para la administración parenteral, tales como soluciones estériles, suspensiones o productos liofilizados, tal como se describe en el presente documento, utilizando la dosis adecuada. Se pueden utilizar excipientes adecuados, tales como agentes tamponadores del pH o surfactantes.

Las formulaciones anteriormente mencionadas se pueden preparar usando procedimientos convencionales, tales como los descritos en las farmacopeas de diferentes países y en otros textos de referencia.

Los compuestos o composiciones, tal como se describen en el presente documento, se pueden administrar mediante cualquier procedimiento adecuado, tal como la infusión intravenosa y las vías oral, intraperitoneal o intravenosa. La administración oral es la forma preferida por la conveniencia para los pacientes y por el carácter crónico de las enfermedades a tratar.

La cantidad administrada de un compuesto dependerá de la eficacia relativa del compuesto elegido, la gravedad de la enfermedad a tratar y el peso del paciente. Sin embargo, los compuestos descritos en el presente documento se administrarán una o más veces al día, por ejemplo 1, 2, 3 ó 4 veces diarias, con una dosis total entre 0,1 y 1.000 mg/kg/día. Es importante tener en cuenta que puede ser necesario introducir variaciones en la dosis, dependiendo de la edad y de la afección del paciente, así como modificaciones en la forma de administración.

Los compuestos y composiciones descritos en el presente documento se pueden utilizar junto con otros medicamentos en terapias combinadas. Los otros fármacos pueden formar parte de la misma composición o de otra composición diferente, para su administración al mismo tiempo o en tiempos diferentes.

La descripción también se refiere al uso de al menos un compuesto de fórmula (I) para la fabricación de un fármaco para el tratamiento y/o la profilaxis de una enfermedad de tipo cardiovascular, del sistema digestivo, del sistema nervioso o del sistema inmune.

La descripción también se refiere al uso de al menos un compuesto de fórmula (I) para la fabricación de un fármaco para la prevención y/o el tratamiento de la diabetes mellitus, la enfermedad de Crohn, la colitis ulcerosa, la claudicación intermitente, enfermedades cardiovasculares, fibrosis quística, trastorno bipolar, demencia y esquizofrenia.

A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra "comprende" y sus variantes no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o etapas. Para los expertos en la materia, otros objetivos, ventajas y características de la invención se proporcionan en las secciones de la descripción y la práctica de la invención. Los siguientes ejemplos se proporcionan a modo de ilustración.

EJEMPLOS DE REALIZACIÓN

En esta memoria descriptiva, los símbolos y convenciones usados en estos procedimientos, esquemas y ejemplos son consistentes con los usados en el Sistema Internacional y la bibliografía científica contemporánea, por ejemplo, el Journal of Medicinal Chemistry. Salvo que se indique otra cosa, todos los materiales de partida se obtuvieron de proveedores comerciales y se usaron sin purificación adicional. Específicamente, se pueden usar las siguientes abreviaturas en los ejemplos y a lo largo de toda la memoria descriptiva: g (gramos); mg (miligramos); kg (kilogramos); μg (microgramos); l (litros); ml (mililitros); μl (microlitros); mmol (milimoles); mol (moles); °C (grados Celsius); Hz (hercio); MHz (megahercio); δ (desplazamiento químico); s (singlete); d (doblete); t (triplete); q (cuartete); m (multiplete); RMN (resonancia magnética nuclear); M (molar); Et_3N (trietilamina); DMF (dimetilformamida); DMSO (dimetilsulfóxido); ACN (acetonitrilo); PBS (solución salina tamponada con fosfato).

EJEMPLO NÚMERO 1: Obtención de EPA

El punto de partida es la captación de gases de efecto invernadero resultantes de la combustión de una cementera, siendo estas emisiones:

Temperatura	150	ºC
Presión	1	bar
Densidad	0,77	kg/m^3
Flujo másico	43.914	kg/h
Calor específico	0,25	kcal/kg
Flujo volumétrico	57.377	m^3/h
CO_2	6	%V
N_2	67.6	%V
O_2	2,1	%V
H_2O	20,7	%V

CH_4	9.000	ppm
NO_x	50	ppm
SO_x	50	ppm
CO	2,69	ppm

Con respecto a la composición de este gas, se considera necesario un pretratamiento consistente en la eliminación sustancial del contenido en SO_x y la disminución de su temperatura. Para ello se instaló una columna de absorción en contracorriente con NaOH. Es importante destacar que, en el procedimiento de la invención, además de la reducción en el balance neto de CO_2, se obtiene una reducción en la concentración final de NO_x (95% de NO y el resto de NO_2) como consecuencia de la disolución en agua del NO y NO_2 (especialmente éste último). En cuanto al tratamiento, se añadió el siguiente gas al reactor fotosintético:

Temperatura	40	°C
Presión	1,98	bar
Densidad	2,22	kg/m³
Flujo másico	38716	kg/h
Calor específico	0,24	kcal/kg
Flujo volumétrico	17473	m³/h
CO_2	7,37	%V
N_2	85,95	%V
O_2	2,95	%V
H_2O	3,69	%V
CH_4	10502	ppm
NO_x	58	ppm
SO_2	1	ppm
CO	0	ppm

La mezcla de gases proporcionada en la tabla anterior, un resultado del pretratamiento, se añadió a los reactores fotosintéticos (agitados continuamente para favorecer el paso de luz y, de este modo, están construidos de un material transparente) que contenían un cultivo monoespecífico de microalgas (específicamente un cultivo de *Dunaliella salina*). Como resultado, se obtuvo una producción de 335 kg/h de biomasa para una planta de 4.100 m^3.

Para obtener esta biomasa, en primer lugar, se extrajo el 25% del cultivo en los reactores. Este cultivo, previo paso a través de la etapa de centrifugación (etapa de extracción), se hizo pasar por una etapa de acidificación en un tanque cuya capacidad era de 1.500 m^3. La base de esta etapa de acidificación es la siguiente:

el cultivo extraído, como consecuencia del burbujeo continuo de gases de escape, tiene un contenido de CO_2, bicarbonato y carbonato muy elevado. Cuando se deja de burbujear este CO_2, el pH de la disolución tiende a subir desplazando el equilibrio hacia la formación de carbonatos. Si se forma mucho carbonato, sobrepasará el punto de solubilidad y éste comenzará a precipitar. Esta precipitación podría producir problemas de *fouling*, que a su vez podría conducir a la contaminación y provocar complicaciones en la transferencia de agua. Por lo tanto, puesto que la separación mecánica (etapa de separación) no es capaz de procesar de una vez todo el volumen extraído, durante este período de almacenamiento se debe añadir un ácido. Específicamente, se añadió una disolución de HCl (1 M) con el objetivo de mantener el pH siempre por debajo de 7.

A continuación, se hizo pasar este cultivo extraído a través de la etapa de separación mecánica, que se realizó con centrífuga, obteniéndose así un producto con un 18% de sólidos.

Además de la fracción concentrada (18% en sólidos), se obtuvo una fracción acuosa (permeada) que representaba un volumen total de 9.680 m^3/día. Esta agua, debido a que era el agua del cultivo, estaba cargada de CO_2, bicarbonato y carbonato. Para liberar esta carga del agua, se alcalinizó con NaOH hasta llegar a pH 9,5 con el objetivo de desplazar el equilibrio hacia la formación de carbonato y, de este modo, sobrepasar el límite de solubilidad del carbonato y hacerlo precipitar. De este modo, se capturó químicamente el CO_2, obteniendo un agua con bajo contenido de CO_2, bicarbonato y carbonato. Esta agua con un bajo contenido de estos elementos se introdujo al sistema de nuevo (los fotobioreactores) con una capacidad de captación renovada de CO_2. Si se introdujera esta agua sin una etapa previa de captura química, la capacidad de asimilación de CO_2 por parte del agua sería mínima pues estaría cerca de la saturación.

Para favorecer la posterior extracción de la fracción lipídica que contiene el producto de interés (EPA), el sólido

obtenido fue sometido a una etapa de rotura basada en la aplicación de ultrasonidos a una frecuencia de 350 Hz durante 8 minutos. Una vez provocada la rotura, se extrajo la fracción lipídica mediante el uso de una combinación de hexano/etanol (2/1) como disolvente de extracción de la fase apolar (de la fracción lipídica). Una vez extraída la fracción lipídica, se purificó el producto de interés (EPA).

Para obtener un EPA con la máxima pureza (94% de riqueza) se procedió a realizar una etapa de destilación molecular. Para ello, primero, los lípidos extraídos se saponificaron y metilaron para obtener de esta forma los respectivos ésteres metílicos (los ésteres metílicos son más estables que los triglicéridos; si se añaden triglicéridos a la fase de destilación molecular se produce la degradación). Por lo tanto, gracias a esta destilación, se obtuvo el éster del ácido eicosopentanoico (eicosopentanoato) con una pureza del 94%. De este modo, tras una etapa de saponificación, se obtuvo una producción de EPA de 100 kg/día.

EJEMPLO NÚMERO 2: Obtención de DHA

El punto de partida es la captación de gases de efecto invernadero resultantes de la combustión de una cementera, siendo las emisiones las siguientes:

Temperatura	170	ºC
Presión	1	bar
Densidad	0,81	kg/m^3
Flujo másico	22.000	kg/h
Calor específico	0,25	kcal/kg
Flujo volumétrico	27.160,49	m^3/h
CO_2	7	%V
N_2	66.8	%V
O_2	1,9	%V
H_2O	17,3	%V
CH_4	9.000	ppm
NO_x	50	ppm
SO_x	50	ppm
CO	2,69	ppm

En cuanto a la composición de esta mezcla de gases, se eliminó sustancialmente el contenido de SO_x y se redujo la temperatura del gas. Para ello se instaló una columna de absorción en contracorriente con NaOH.

En cuanto a este tratamiento, al reactor fotosintético se añadió una mezcla de gases con la siguiente composición:

Temperatura	40	ºC
Presión	1,98	bar
Densidad	2,22	kg/m^3
Flujo másico	19360	kg/h
Calor específico	0,24	kcal/kg
Flujo volumétrico	8720,72	m^3/h
CO_2	7,37	%V
N_2	85,95	%V
O_2	2,95	%V
H_2O	3,69	%V
CH_4	9600	ppm
NO_x	41	ppm
SO_2	1	ppm
CO	0	ppm

La mezcla de gases proporcionada en la anterior tabla, resultante del pretratamiento, se añadió a los reactores fotosintéticos (continuamente en agitación para favorecer el paso de luz y, de este modo, están construidos de un material transparente) que contenían un cultivo monoespecífico de microalgas (específicamente un cultivo de *Nannochloropsis Gaditana*). Como resultado de este procedimiento, se obtuvo una producción de 170 kg/h de biomasa para una planta de 2.040 m^3.

Para la obtención de esta biomasa, en primer lugar se extrajo el 40% del cultivo en los reactores. Este cultivo, previo paso a través de la siguiente etapa de separación mecánica, se hizo pasar por una etapa de acidificación en un tanque con una capacidad de 1.500 m^3. La base de esta etapa de acidificación es la siguiente:

el cultivo extraído, como consecuencia del burbujeo continuo de gases de escape, tiene un contenido de CO_2, bicarbonato y carbonato muy elevado. Cuando se deja de burbujear este CO_2, el pH de la disolución tiende a subir desplazando el equilibrio hacia la formación de carbonatos. Si se forma mucho carbonato, sobrepasará el punto de solubilidad y éste comenzará a precipitar. Esta precipitación podría producir problemas de *fouling*, que a su vez podría conducir a la contaminación y provocar complicaciones en la transferencia de agua. Por lo tanto, puesto que la separación mecánica (etapa de separación) no es capaz de procesar de una vez todo el volumen extraído, durante este período de almacenamiento se debe añadir un ácido. Específicamente, se añadió una disolución de HCl (1 M) con el objetivo de mantener el pH siempre por debajo de 7.

A continuación, se hizo pasar este cultivo a través de la etapa de separación mecánica, que se realizó con un filtro de presión, obteniéndose así un producto con un 23% de sólidos.

Además, a partir de este producto se obtuvo una fracción acuosa (sobrenadante del tanque de decantación) que representaba un volumen total de 7.026 m^3/día. Esta agua, debido a que era el agua del cultivo, estaba cargada de CO_2, bicarbonato y carbonato. Para liberar esta carga del agua, se alcalinizó con KOH hasta llegar a pH 9 con el objetivo de desplazar el equilibrio hacia la formación de carbonato y, de este modo, sobrepasar el límite de solubilidad del carbonato y hacerlo precipitar. De este modo, se capturó químicamente el CO_2, obteniendo un agua con bajo contenido de CO_2, bicarbonato y carbonato. Esta agua con un bajo contenido de estos elementos se introdujo al sistema de nuevo (los fotobioreactores) con una capacidad de captación renovada de CO_2. Si se introdujera esta agua sin una etapa previa de captura química, la capacidad de asimilación de CO_2 por parte del agua sería mínima pues estaría cerca de la saturación.

La extracción lipídica, la fracción en la que se encuentra el producto de interés (DHA), se llevó a cabo utilizando disolventes, específicamente una mezcla de heptanol/isopropanol (2/1). Esta extracción se llevó a cabo dentro de un reactor agitado a reflujo (la mezcla se sometió a 80°C mientras se agitaba; todo el disolvente que se evaporó a esta temperatura se condensó, cayendo de nuevo al reactor).

Para obtener un DHA con la máxima pureza (91 % de riqueza) a partir del extracto lipídico obtenido; se procedió a realizar una etapa de extracción con CO_2 en condiciones supercríticas: específicamente las condiciones fueron 200 bares de presión y 35°C de temperatura. De este modo, la producción de DHA fue de 51 kg/día.

EJEMPLO NÚMERO 3: Obtención de omega-7 (ácido palmitoleico)

El punto de partida es la captación de gases de efecto invernadero resultantes de la combustión de una cementera, siendo las emisiones las siguientes:

Temperatura	420	ºC
Presión	1	bar
Densidad	0,79	kg/m^3
Flujo másico	2.000	kg/h
Calor específico	0,25	kcal/kg
Flujo volumétrico	2.531,65	m^3/h
CO_2	12	%V
N_2	61	%V
O_2	1,9	%V
H_2O	20,7	%V
CH_4	2.500	ppm
NO_x	90	ppm
SO_x	50	ppm
CO	1,65	ppm

En cuanto a la composición de estas emisiones, se eliminó sustancialmente el contenido de SO_x y se redujo la temperatura. Para ello se instaló una columna de absorción en contracorriente con NaOH.

En cuanto a este pretratamiento, al reactor fotosintético se añadió una mezcla de gases con la siguiente composición:

Temperatura	40	°C
Presión	1,98	Bar
Densidad	2,22	kg/m^3
Flujo másico	1760	kg/h
Calor específico	0,24	kcal/kg
Flujo volumétrico	792,79	m^3/h
CO_2	13,5	%V
N_2	63	%V
O_2	2,1	%V
H_2O	3,2	%V
CH_4	2300	ppm
NO_x	92	ppm
SO_2	2	ppm
CO	0	ppm

Los gases proporcionados en la anterior tabla, resultantes del tratamiento, se añadieron a los reactores fotosintéticos (continuamente en agitación para favorecer el paso de luz y, de este modo, están construidos de un material transparente) que contenían un cultivo pluriespecífico de microalgas (específicamente un cultivo de *Tetraselmis suecica* y *Isochrysis galbana)*. Como resultado de este procedimiento, se obtuvo una producción de 27,83 kg/h de biomasa para una planta de 334 m^3.

Para la obtención de esta biomasa, en primer lugar se extrajo el 50% del cultivo en los reactores. Este cultivo, previo paso a través de la etapa de separación mecánica, se hizo pasar por una etapa de acidificación en un tanque con una capacidad de 1.500 m^3. La base de esta etapa de acidificación es la siguiente:

el cultivo extraído, como consecuencia del burbujeo continuo de gases de escape, tiene un contenido de CO_2, bicarbonato y carbonato muy elevado. Cuando se deja de burbujear este CO_2, el pH de la disolución tiende a subir desplazando el equilibrio hacia la formación de carbonatos. Si se forma mucho carbonato, sobrepasará el punto de solubilidad y éste comenzará a precipitar. Esta precipitación podría producir problemas de *fouling*, que a su vez podría conducir a la contaminación y provocar complicaciones en la transferencia de agua. Por lo tanto, puesto que la separación mecánica (etapa de separación) no es capaz de procesar de una vez todo el volumen extraído, durante este período de almacenamiento se debe añadir un ácido. Específicamente, se añadió una disolución de HCl (1 M) con el objetivo de mantener el pH siempre por debajo de 7.

Este cultivo pasó a continuación a la etapa de separación mecánica, que se realizó con una combinación de coagulación-floculación-filtración. Se coaguló con sulfato de aluminio, neutralizando de esta forma la carga de las microalgas, y se floculó con un polielectrolito polimérico (ZETAG). A continuación, el cultivo se sometió a un proceso de filtración en prensa con el objetivo de aumentar el contenido en sólidos. La torta que se obtuvo después de esta etapa de concentración era una biomasa húmeda con una concentración en sólidos del 31 %.

Además, a partir de este producto se obtuvo una fracción acuosa (sobrenadante del tanque de decantación) que representaba un volumen total de 5.120 m^3/día. Esta agua, debido a que era el agua del cultivo, estaba cargada de CO_2, bicarbonato y carbonato. Para liberar esta carga del agua, se alcalinizó con KOH hasta llegar a pH 9 con el

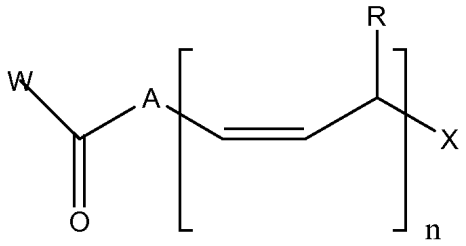
objetivo de desplazar el equilibrio hacia la formación de carbonato y, de este modo, sobrepasar el límite de solubilidad del carbonato y hacerlo precipitar. De este modo, se capturó químicamente el CO_2, obteniendo un agua con bajo contenido de CO_2, bicarbonato y carbonato. Esta agua con un bajo contenido de estos elementos se introdujo al sistema de nuevo (los fotobioreactores) con una capacidad de captación renovada de CO_2. Si se introdujera esta agua sin una etapa previa de captura química, la capacidad de asimilación de CO_2 por parte del agua sería mínima pues estaría cerca de la saturación.

La extracción lipídica, la fracción en la que se encuentra el producto de interés (ácido palmitoleico: omega-7), se llevó a cabo utilizando isopropanol como disolvente de extracción. Esta extracción se llevó a cabo en un reactor agitado a reflujo (la temperatura de reacción fue de 85ºC mientras se agitaba; todo el disolvente que se evaporó a esta temperatura se condensó, cayendo de nuevo al reactor). Para obtener omega-7 con la máxima pureza (87% de riqueza), se procedió entonces a realizar una etapa de extracción con CO_2 en condiciones supercríticas: específicamente, las condiciones fueron 180 bares de presión y 70ºC de temperatura. De esta forma, la producción de omega-7 fue de 8,35 kg/día.

En conclusión, mediante el procedimiento de la invención se consiguió no sólo producir ácidos grasos de interés farmacéutico y nutricional, sino también capturar, convertir y revalorizar el CO_2 entre otros gases con efecto invernadero (NO_x, CH_4...) de manera eficiente, produciendo así una reducción del CO_2 emitido a la atmósfera, lo cual hace que sea un procedimiento beneficioso y sostenible para el medio ambiente.

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para la obtención de ácido grasos de interés farmacológico y nutricional, que comprende las etapas de:
a) alimentación de un gas o mezcla de gases que comprenden CO_2 a un reactor que contiene un cultivo que comprende al menos una especie de microalga capaz de realizar la fotosíntesis;
b) fotosíntesis por la especie de microalga utilizando el CO_2 suministrado, produciendo una biomasa que contiene un compuesto de fórmula general (I):



en la que:
A y X son iguales o diferentes, de forma independiente, y se seleccionan entre alquilo C_3-C_{10}, alquenilo C_1-C_{10}, cicloalquilo C_1-C_7 o cualquier grupo arilo sustituido o no sustituido;
n es un número entero de 1 a 10;
R se selecciona entre H, un grupo hidroxilo, alquilo C_1-C_4, alquenilo C_1-C_3, cicloalquilo C_3-C_7 o cualquier otro grupo arilo sustituido o no sustituido;
W se selecciona del grupo que consiste en un grupo hidroxilo, una molécula de glicerol unida a un compuesto de fórmula general (I) adicional formando un diglicérido, o una molécula de glicerol unida a dos compuestos de fórmula general (I) adicionales formando un triglicérido;
y sus sales y solvatos;
c) extracción del compuesto de fórmula general (I) de la biomasa obtenida en la etapa b); y
d) concentración y/o purificación del compuesto de fórmula general (I) del extracto obtenido en la etapa c);

caracterizado porque, tras la etapa de fotosíntesis, se extrae del reactor entre un 5 y un 100% del cultivo, que, a continuación, se separa en una fracción sólida que contiene biomasa, la cual, a continuación, se somete a la etapa de extracción del compuesto de fórmula general (I), y una fracción de fase líquida que contiene carbonatos y/o bicarbonatos, que se separan de la fracción líquida, después de lo cual, la fracción líquida sustancialmente exenta de carbonatos y/o bicarbonatos se devuelve, a continuación, al menos parcialmente, al reactor.

2. Procedimiento, según la reivindicación 1, en el que, en la etapa en la que el cultivo se extrae, al menos parcialmente, del reactor, se extrae entre el 5 y el 50% del cultivo.

3. Procedimiento, según la reivindicación 2, en el que, en la etapa en la que el cultivo se extrae, al menos parcialmente, del reactor, se extrae se extrae aproximadamente el 10% del cultivo.

4. Procedimiento, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que, antes de la etapa a), se lleva a cabo un pretratamiento con el gas o una mezcla de gases que comprenden CO_2 que consiste en al menos uno de: eliminación sustancial de SO_x, NO_x y humedad y cambio de la temperatura del gas a un intervalo de 30 a 40ºC.

5. Procedimiento, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la microalga se selecciona del grupo que consiste en Clorofíceas, Bacilariofíceas, Dinofíceas, Criptofíceas, Crisofíceas, Haptofíceas, Prasinofíceas, Rafidofíceas, Estigmatofíceas o cualquier combinación de las mismas

6. Procedimiento, según la reivindicación 5, en el que la microalga se selecciona del grupo que consiste en *Dunaliella salina, Tetraselmis galvana, Tetraselmis suecica, Isochrysis galbana, Nannochloropsis gaditana* o *Nannochloris,* en cualquier combinación de las mismas.

7. Procedimiento, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el gas o mezcla de gases que se alimentan en el reactor en la etapa a) proceden, de manera exógena, de la atmósfera o cualquier industria y, de manera endógena, de los gases generados durante el propio procedimiento, en cualquier combinación de los mismos.

8. Procedimiento, según la reivindicación 7, en el que la fracción exógena del gas o la mezcla de gases que se alimenta en el reactor en la etapa a) procede de una cementera.

9. Procedimiento para obtener ácidos grasos, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que, en la

etapa b), el cultivo se somete a turbulencia y se expone a luz natural y/o artificial en cualquier combinación.

10. Procedimiento, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que, después de la etapa en la que el cultivo se extrae, al menos parcialmente, del reactor, el cultivo extraído se acidifica hasta un pH entre 3,5 y 8.

11. Procedimiento, según la reivindicación 10, en el que, el cultivo extraído se acidifica hasta un pH entre 6 y 8.

12. Procedimiento, según la reivindicación 10 u 11, en el que la acidificación se realiza mediante la adición al cultivo de al menos un agente acidificante seleccionado del grupo que consiste en CO_2, una mezcla de CO_2 y aire, ácidos fuertes o débiles, o cualquier combinación de los mismos.

13. Procedimiento, según la reivindicación 12, en la que la acidificación se lleva a cabo mediante la adición de una mezcla de CO_2 y aire al cultivo.

14. Procedimiento, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que después de la etapa de extraer, al menos parcialmente, el cultivo del reactor, se lleva a cabo la separación de la fracción sólida que contiene biomasa y la fracción líquida que contiene carbonatos y/o bicarbonatos mediante al menos una técnica seleccionada del grupo que consiste en filtración, centrifugación, floculación, electrocogulación, ultrasonidos, evaporación, decantación o cualquier combinación de las mismas.

15. Procedimiento, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la separación de carbonatos y/o bicarbonatos de la fracción líquida resultante de la extracción, al menos parcial, del cultivo del reactor se lleva a cabo mediante la precipitación de las correspondientes sales carbonatadas causada mediante la adición de al menos un álcali.