

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 613 606**

51 Int. Cl.:

C07C 59/42 (2006.01)

A61K 31/20 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.03.2010 PCT/ES2010/070153**

87 Fecha y número de publicación internacional: **23.09.2010 WO2010106211**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.03.2010 E 10753158 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.01.2017 EP 2409963**

54 Título: **Uso de derivados de ácidos grasos polinsaturados como medicamentos**

30 Prioridad:

16.03.2009 ES 200900725

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

24.05.2017

73 Titular/es:

**LIOPHARMA THERAPEUTICS, S.L (100.0%)
Ctra. de Valldemossa, Km 7, 4 ParcBit Edificio 17
2º piso módulo C-8
07121 Palma de Mallorca (Islas Baleares) ES**

72 Inventor/es:

**ESCRIBÁ RUIZ, PABLO VICENTE;
BUSQUETS XAUBET, XAVIER;
TERÉS JIMÉNEZ, SILVIA;
BARCELÓ COBLIJN, GWENDOLYN;
LLADÓ CAÑELLAS, VICTORIA;
MARCILLA ETXENIKE, AMAIA;
MARTÍN, MARÍA LAURA;
HIGUERA URBANO, MÓNICA;
ÁLVAREZ MARTÍNEZ, RAFAEL y
LÓPEZ, DANIEL HORACIO**

74 Agente/Representante:

ILLESCAS TABOADA, Manuel

ES 2 613 606 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**USO DE DERIVADOS DE ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS COMO MEDICAMENTOS****5 CAMPO DE LA INVENCION**

La presente invención se refiere al uso de 1,2-derivados de ácidos grasos poliinsaturados como medicamentos para el tratamiento de enfermedades cuya etiología está basada en alteraciones de los lípidos de la membrana celular como, por ejemplo: alteraciones en los niveles, en la composición o en la estructura de dichos lípidos y de las proteínas que interaccionan con éstos, así como en el tratamiento de enfermedades en las que la regulación de la composición y estructura lipídica de membrana y de las proteínas que interaccionan con éstos, resulte en la reversión del estado patológico. Específicamente, dichas enfermedades son cánceres. Además, la presente invención se refiere a composiciones farmacéuticas y nutraceuticas que comprenden dichos 1,2-derivados de ácidos grasos poliinsaturados. Así, la presente invención, debido a su amplio espectro de aplicación, es susceptible de ser englobada en el campo de la medicina y la farmacia de forma general.

ESTADO DE LA TÉCNICA

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

Los lípidos que se ingieren en la dieta regulan la composición lipídica de las membranas celulares (Alemany y cols., 2007). Asimismo, diferentes situaciones fisiológicas y patológicas pueden cambiar los lípidos presentes en las membranas celulares (Buda y cols., 1994; Escribá, 2006). Un ejemplo de una situación que induce cambios fisiológicos en los lípidos de membrana lo constituyen los peces que viven en ríos con temperatura variable, cuyos lípidos experimentan importantes cambios (cambios en la cantidad y tipos de lípidos de membrana) cuando la temperatura baja desde 20°C (verano) hasta 4°C (invierno) (Buda et al. 1994). Estos cambios permiten el mantenimiento de sus funciones en tipos celulares de muy diversa naturaleza. Ejemplos de procesos patológicos que pueden influenciar la composición lipídica son desórdenes neurológicos o enfermedades inducidas por medicamentos (Rapoport, 2008). Por ello, se podría decir, que los lípidos de membrana pueden determinar el buen o mal funcionamiento de múltiples mecanismos de señalización celular.

Los cambios en la composición lipídica de las membranas influyen sobre la señalización celular, pudiendo dar lugar al desarrollo de enfermedades o bien a revertirlas (Escribá, 2006). Diferentes estudios realizados durante los últimos años indican que los lípidos de membrana desempeñan un papel mucho más importante del que se les había asignado hasta ahora (Escribá et al., 2008). La visión clásica de que la membrana celular asigna a los lípidos una función puramente estructural, como soporte para las proteínas de membrana, que se suponen son los únicos elementos funcionales de la membrana. La membrana plasmática tendría una función adicional, evitando que entren en las células agua, iones y otras moléculas. Sin embargo, las membranas tienen otras funciones de gran importancia en el mantenimiento de la salud, la aparición de enfermedades y la curación. Dado que un organismo enfermo lo es porque sus células están enfermas, las alteraciones en los lípidos de membrana pueden dar lugar a la aparición de enfermedades. De forma análoga, intervenciones terapéuticas, nutraceuticas o cosméticas enfocadas a regular los niveles de lípidos de membrana pueden prevenir y revertir (curar) procesos patológicos. Además, numerosos trabajos indican que el consumo de grasas saturadas y trans-monoin saturadas está relacionado con el deterioro de la salud. Además de las enfermedades neurológicas descritas anteriormente, enfermedades vasculares, cánceres y otras, se han relacionado directamente con lípidos de membrana (Stender y Dyerberg, 2004). El deterioro de un organismo se manifiesta en la aparición de éstos y otros tipos de enfermedades, que pueden incluir enfermedades metabólicas, inflamación, neurodegeneración, etc.

Las membranas celulares constituyen la barrera selectiva a través de la cual una célula recibe metabolitos e información de otras células y del medio extracelular que la rodea. Sin embargo, las membranas desempeñan otras funciones muy importantes a nivel celular. Por una parte, sirven de soporte a proteínas implicadas en la recepción o emisión de mensajes que controlan importantes funciones orgánicas. Dichos mensajes, mediados por numerosas hormonas, neurotransmisores, citoquinas, factores de crecimiento, etc., activan proteínas de membrana (receptores), que propagan la señal recibida al interior celular a través de otras proteínas (proteínas de membrana

periféricas), algunas de las cuales también se ubican en la membrana. Dado que (1) estos sistemas funcionan como cascadas de amplificación y (2) que los lípidos de membrana pueden regular la localización y función de dichas proteínas periféricas, la composición lipídica de las membranas puede tener un impacto importante en la fisiología celular. En concreto, la interacción de ciertas proteínas periféricas, como las proteínas G, la proteína quinasa C, la proteína Ras, etc., con la membrana celular depende de la composición lipídica de la misma (Vögler et al., 2004; Vögler et al., 2008). Por otro lado, la composición lipídica de las membranas celulares está influenciada por el tipo y la cantidad de los lípidos en la dieta (Escribá et al., 2003). De hecho, intervenciones nutracéuticas o farmacéuticas lipídicas pueden regular la composición lipídica de las membranas, que a su vez puede controlar la interacción (y por ello la actividad) de importantes proteínas de señalización celular (Yang et al., 2005).

El hecho de que los lípidos de membrana puedan controlar la señalización celular, puede suponer que también puedan regular el estado fisiológico de las células y por tanto el estado de salud general. De hecho, se han descrito efectos tanto negativos, como positivos de los lípidos sobre la salud (Escribá et al., 2006; Escribá et al., 2008). Estudios preliminares han demostrado que el ácido 2-hidroxioléico, que es un ácido graso monoinsaturado, es capaz de revertir ciertos procesos patológicos, como el sobrepeso, la hipertensión o el cáncer (Alemany et al., 2004; Martínez et al., 2005; Vögler et al., 2008). El ácido 2-hidroxioléico puede reemplazar el ácido oleico en líneas celulares tumorales (Martin et al., 2008).

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

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

Los procesos neurodegenerativos dan lugar a una serie de enfermedades con diferentes manifestaciones, pero con la característica común de estar ocasionadas por degeneración o disfunción de las células del sistema nervioso central y/o periférico. Algunos de estos procesos neurodegenerativos suponen una merma importante de la capacidad cognitiva de los pacientes o alteraciones de tipo motor. Desórdenes neurodegenerativos, neurológicos y neuropsiquiátricos tienen una base común de degeneración o alteración neuronal o de sus componentes, como los lípidos (p.ej. mielina) o proteínas de membrana (p.ej. receptores adrenérgicos, serotoninérgicos, etc.). Ejemplos de enfermedades del sistema nervioso central incluyen entre otras la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson, esclerosis múltiple, ALS, esclerosis del hipocampo y otros tipos de epilepsia, esclerosis focal, adrenoleucodistrofia y otras leucodistrofias, demencia vascular, demencia senil, dolores de cabeza, incluyendo la migraña, traumas del sistema nervioso central, desórdenes del sueño, vértigos, dolor, embolias (accidentes cerebrovasculares), depresión, ansiedad o adicciones. Finalmente, ciertas enfermedades neurodegenerativas pueden derivar en procesos que terminan en ceguera, problemas de audición, desorientación, alteraciones en el estado de ánimo, etc.

Un ejemplo de desorden neurodegenerativo bien caracterizado lo constituye la enfermedad de Alzheimer, caracterizado por la formación de placas seniles, formadas por restos de proteínas de membrana (p.ej., el péptido β -amiloide) originadas por un proceso de péptidos erróneo, seguido por su acumulación en el exterior de las células, y de ovillos de neurofilamentos de proteína Tau. Este proceso se ha asociado a alteraciones en el metabolismo del colesterol y la consecuente alteración de los niveles de ciertos lípidos de membrana como el colesterol y el ácido docosahexaenoico (Sagin y Sozmen, 2008, Rapoport, 2008). Además, varias enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Alzheimer, la demencia senil (o cuerpos de Lewis), han estado asociadas con la acumulación patológica de agregados fibrilares de la proteína α -sinucleína. De hecho, el desarrollo de estas enfermedades y de otras enfermedades neurodegenerativas está relacionado con alteraciones de los lípidos séricos o celulares, como colesterol, triglicéridos, esfingomielina, fosfatidiletanolamina, etc. Esto sugiere una vez más que los lípidos desempeñan una función crucial en la actividad correcta de neuronas, nervios, cerebro, cerebelo y la medula espinal, lo cual es lógico dada la abundancia de los lípidos en el sistema nervioso central. Las moléculas de esta invención tienen un alto o muy alto potencial para revertir muchos de los procesos asociados con desórdenes neurológicos, neurodegenerativos y neuropsiquiátricos.

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

Las enfermedades metabólicas forman un conjunto de patologías caracterizadas por la acumulación o el déficit de ciertas moléculas. Un ejemplo típico lo constituye la acumulación de glucosa, colesterol y/o de triglicéridos por encima de los niveles normales. El aumento en los niveles de glucosa, colesterol y/o triglicéridos, tanto a nivel sistémico (p.ej., aumento en los niveles plasmáticos) como a nivel celular (p.ej., en las membranas celulares) se asocian a alteraciones en la señalización celular que desembocan en disfunciones a varios niveles, y que se deben normalmente a errores en la actividad de ciertas enzimas o al control inadecuado de dichas proteínas. Entre las enfermedades metabólicas más importantes se encuentran la hipercolesterolemia (elevados niveles de colesterol) y la hipertrigliceridemia (elevados niveles de triglicéridos). Estas enfermedades tienen tasas de incidencia, de morbilidad y mortalidad elevadas, por lo que su tratamiento es una necesidad de primer orden. Otras enfermedades metabólicas importantes incluyen la diabetes y resistencia a la insulina, caracterizadas por problemas en el control de los niveles de glucosa. Estas enfermedades metabólicas están involucradas en la aparición de otras enfermedades, como cáncer, hipertensión, obesidad, arteriosclerosis, etc. Recientemente, se ha definido otro proceso de enfermedad estrechamente relacionado con los desórdenes metabólicos descritos anteriormente y que podría constituir un nuevo tipo de metabolopatía *per se*, que es el síndrome metabólico.

El papel protector de ciertos ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) sobre ciertas enfermedades ya ha sido descrito por diferentes investigadores. Por ejemplo, los AGPI ralentizan el desarrollo de cáncer y tienen efectos positivos contra el desarrollo de enfermedades cardiovasculares, patologías neurodegenerativas, metabólicas, obesidad, inflamación, etc. (Trombetta et al., 2007; Jung et al., 2008; Florent et al., 2006). Estos estímulos indican el papel importante de los lípidos (AGPI) en tanto la etiología de varias enfermedades como en su tratamiento. Sin embargo, la actividad farmacológica de estos compuestos es muy limitada debido a su rápida metabolización y escaso tiempo de vida media en la sangre. Por lo tanto parece necesario el desarrollo de AGPIs con una metabolización más lenta, consecuencia de la cual su presencia en la membrana celular se vea aumentada, en comparación a los AGPIs hasta ahora utilizados, y que faciliten la interacción de proteínas periféricas de señalización celular. Las moléculas de esta invención son derivados sintéticos de AGPIs, tienen una metabolización más lenta y un efecto terapéutico marcada y significativamente superior al de los AGPIs naturales.

Debido a la relación existente entre las alteraciones estructurales y funcionales de los lípidos localizados en la membrana celular con el desarrollo de varias enfermedades de diversa tipología, pero con una etiología unitariamente relacionada con alteraciones estructurales y/o funcionales de los lípidos de la membranas celulares, como por ejemplo: cáncer, enfermedades cardiovasculares, obesidad, inflamación, enfermedades neurodegenerativas y metabólicas; la presente invención se focaliza en el uso de nuevos ácidos grasos poliinsaturados sintéticos capaces de solventar los problemas técnicos asociados a los ácidos grasos conocidos arriba mencionados y, por lo tanto, son útiles para tratar eficazmente dichas enfermedades.

DESCRIPCIÓN

Breve descripción

La presente invención se focaliza en derivados 1,2-derivados de ácidos grasos poliinsaturados (en lo sucesivo: D-AGPIs) para ser usados en el tratamiento de enfermedades comunes cuya etiología común se relaciona con alteraciones estructurales y/o funcionales de los lípidos de la membrana celular, o de proteínas que interaccionan con estos, particularmente cáncer. Por otro lado, se describen también en este documento D-AGPI para su uso en el tratamiento de enfermedades vasculares, neurodegenerativas y neurológicas, enfermedades metabólicas, enfermedades inflamatorias, obesidad y sobrepeso. Los D-AGPI tienen menor tasa de metabolización que los ácidos grasos poliinsaturados naturales (en lo sucesivo: AGPI), ya que la presencia de átomos diferentes de hidrogeno (H) en los carbonos 1 y/o 2 bloquea su degradación a través de la β -oxidación. Esto causa cambios significativos en la composición de las membranas, regulando la interacción de proteínas periféricas de señalización celular. Esto puede conducir a, por ejemplo, diferencias en el empaquetado de la superficie de la membrana, modulando el anclaje de proteínas periféricas que participan en la propagación de mensajes celulares. Así, las moléculas D-AGPI tienen una actividad mucho mayor que los AGPIs, mostrando efectos farmacológicos significativamente superiores para el tratamiento de las enfermedades indicadas.

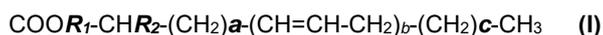
Como se ha mencionado anteriormente, las enfermedades tratadas con los D-AGPI de la invención comparten una misma etiología la cual se relaciona con alteraciones estructurales y/o funcionales (o de cualquier otro origen) de los lípidos de la membrana celular. A modo de ejemplo se exponen las siguientes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

- El cáncer: cáncer de hígado, cáncer de mama, leucemia, cáncer de cerebro, cáncer de pulmón, etc.

También se mencionan en este documento:

- Enfermedades vasculares: arterioesclerosis, isquemias, aneurismas, ictus, cardiomiopatías, angiogénesis, hiperplasia cardíaca, hipertensión, infarto, angina, embolia (accidente cerebrovascular), etc.
- Obesidad, sobrepeso, control del apetito y celulitis.
- Enfermedades metabólicas: hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia, diabetes, resistencia a la insulina, etc.
- Enfermedades neurodegenerativas, desórdenes neurológicos y neuropsiquiátricos: enfermedad de Alzheimer, demencia vascular, síndrome de Zellweger, enfermedad de Parkinson, esclerosis múltiple, esclerosis lateral amiotrófica, esclerosis hipocámpal y otros tipos de epilepsia, esclerosis focal, adrenoleucodistrofia y otros tipos de leucodistrofias, demencia vascular, demencia senil, demencia de Lewy, atrofia sistémica múltiple enfermedades de priones, dolores de cabeza incluyendo migraña, daño del sistema nervioso central, desórdenes del sueño, vértigo, dolor, embolia (accidente cerebrovascular), depresión, ansiedad, adicciones, problemas de aprendizaje o cognitivos y enfermedades que requieren en general la detención de la neurodegeneración o la neuroregeneración inducida por el tratamiento con los compuestos de la invención.
- Enfermedades inflamatorias, incluyendo inflamación, inflamación cardiovascular, inflamación inducida por tumores, inflamación de origen reumatoide, inflamación de origen infeccioso, inflamación respiratoria, inflamación crónica y aguda, hiperalgesia de naturaleza inflamatoria, edema, inflamación debida a traumas o quemaduras, etc.

La presente invención se refiere a compuestos, o sus sales, para uso en el tratamiento o prevención del cáncer, tal como se divulga en las reivindicaciones 1 a 3. Dichos compuestos, o sus sales, pertenecen a una clase de compuestos D-AGPI caracterizados por la siguiente Fórmula (I):



donde **a**, **b** y **c** pueden tener valores independientes entre 0 y 7, y **R**₁ and **R**₂ pueden ser un ion, átomo, o grupo de átomos con un peso molecular que independientemente no excede 200 Da.

En una estructura preferida de la fórmula (I) **a**, **b** y **c** pueden tener valores independientes entre 0 y 7, **R**₁ es H y **R**₂ es OH.

En otra estructura preferida de la fórmula (I) **a**, **b** y **c** pueden tener valores independientes entre 0 y 7, **R**₁ es Na y **R**₂ es OH.

En otra estructura preferida de la fórmula (I) **a** y **c** pueden tener valores independientes entre 0 y 7, **b** puede tener valores independientes entre 2 y 7, y **R**₁ y **R**₂ pueden ser un ion, átomo, o grupo de átomos cuyo peso molecular es independientemente igual o menos de 200 Da.

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

La presente invención también se refiere a una composición farmacéutica o nutracéutica que comprende al menos un compuesto, o sus sales, tal como se divulga en las reivindicaciones 4 a 7. Además los ácidos grasos de la invención pueden administrarse de forma independiente o formulados en composiciones farmacéuticas o nutracéuticas donde se combinan entre ellos y/o con excipientes como por ejemplo: ligantes, rellenos, desintegradores, lubricantes, recubridores, edulcorantes, saborizantes, colorantes, transportadores, etc. y combinaciones de los mismos. Asimismo, los ácidos grasos de la fórmula (I) pueden formar parte de composiciones farmacéuticas o nutracéuticas, en combinación con otros principios activos.

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

A los efectos de la presente invención el término "cantidad terapéuticamente eficaz" es aquella que revierte la enfermedad o la previene sin mostrar efectos secundarios adversos.

Breve descripción de las figuras

Figura 1. Efecto de los compuestos de la **Tabla 1** sobre el crecimiento de células tumorales. Se representa en el eje y el número de células viables (% del control) en función del compuesto utilizado (eje x). Las células de cáncer de

pulmón humano (A549) se cultivaron en medio RPMI-1640 con 10% de suero durante 48 horas en ausencia (control) o presencia de 250 μ M de los compuestos de la fórmula (I). La gráfica representa el número de células viables (media y error estándar de la media de 3 experimentos). La línea punteada representa la eliminación total de células (0% de viabilidad).

5 **Figura 2.** Efecto ciertas moléculas AGPI y D-AGPI sobre la proliferación de células vasculares A10. Se representa en el eje y el número de células (% del control) en función del ácido graso utilizado (eje horizontal). Las células se incubaron en medio completo (control, C), medio incompleto sin suplemento (CSS) o de medio completo en presencia de AGPIs (182, 183A, 183G, 204, 205 y 226) o de D-AGPIs (182A1, 183A1, 183A2, 204A1, 205A1 y 226A1). La reducción de la proliferación, pero aún por encima de los valores de CSS, indica que estas moléculas tienen capacidad para regular la proliferación anormal de células cardiovasculares sin llegar a ser tóxicas.

Figura 3.

15 **A.** Proliferación de adipocitos en cultivo en ausencia (control, C) o presencia de diferentes AGPIs y D-AGPIs. Se representa en el eje y el número de células (% del control) en función del ácido graso utilizado (eje x). Como control de no proliferación se empleó un medio deficiente en suero (medio con suero bajo, MSB).

20 **B.** En el eje-Y se representa el peso corporal (% del control sin tratar) y en el eje horizontal los compuestos usados en el tratamiento de animales experimentales. En el eje X, de la izquierda a la derecha, se representa primero el tratamiento con vehículo (C) y después, el tratamiento con varios de los compuestos divulgados en las reivindicaciones 1 a 7 de la invención. Ratas SHR fueron tratadas durante un mes con 200 mg/kg de cada uno o de los 24 compuestos que muestra la Figura. Cada grupo experimental consistió en 6 animales y para cada serie se usó un grupo de animales tratado con vehículo (agua), y los resultados fueron comparados con el peso de los animales que no habían recibido ningún tratamiento. Las letras A, B, N y P indican la combinación de los radicales **R**₁ y **R**₂ de acuerdo con la **Tabla 3**.

Figura 4.

30 **A.** Muerte de células P19 en cultivo en ausencia de factores externos (control, C: 0% de muerte neuronal) y en presencia de NMDA (100% de muerte neuronal). Se representa en el eje vertical la muerte neuronal (% del control) en función del ácido graso utilizado (eje-x) La presencia de AGPIs indujo incrementos modestos en la supervivencia de células P19 en presencia de NMDA. Los D-AGPIs indujeron incrementos importantes en los valores de supervivencia celular, superando en más del 200% en el caso de 226A1. Dado que el número de células en cultivos de células tratadas es mayor que en células de control, puede afirmarse que estos compuestos no solo previenen muerte neuronal inducida por NMDA (anti-neurodegenerativo) sino que también son agentes neuroregenerativos.

40 **B.** Efecto de D-226B1 AGPI en la mejora de la ejecución de un ejercicio en un laberinto radial para un animal modelo de la enfermedad de Alzheimer. En el eje Y de la figura de la izquierda se muestra el tiempo empleado en completar el ejercicio y en el eje vertical Y de la figura de la derecha el número total de errores hechos en la implementación del ejercicio programado (media \pm desviación estándar de la media) (tiempo de ejecución). En ambas figuras, de izquierda a derecha, se representa en el eje X los resultados para ratones sanos (control) (primera columna), en ratones con Alzheimer inducido y tratados con agua como vehículo (segunda columna) o en ratones tratados con el compuesto 226B1 (tercera columna). Los animales con la enfermedad de Alzheimer tardaron más y realizaron más errores que ratones sanos, siendo las diferencias significativas estadísticamente (*, P <0,05). Por el contrario, ratones con Alzheimer que fueron tratados con el compuesto 226B1 no mostraron diferencias significativas con los animales sanos.

Figura 5.

50 **A.** El panel superior es un inmunoblot que muestra la inhibición de la expresión de la proteína pro-inflamatoria COX-2, inducida previamente por lipopolisacárido bacteriano (LPS) (C+, 100%) en macrófagos humanos derivados de monocitos U937 con diferentes D-AGPI divulgados en las reivindicaciones 1 a 7 de la presente invención. En el panel inferior se muestra la relación COX-2/COX-1 como % del control (eje Y) para los siguientes compuestos (eje X): OOA (ácido 2-hidroxioléico), OLA (182A1), OALA (183A1), OGLA (183A2), OARA (204A1), OEPA (205A1), ODHA (226A1).

60 **B.** Muestra la eficacia antiinflamatoria de diferentes compuestos D-AGPI divulgados en las reivindicaciones 1 a 7 de la presente invención en un animal modelo para inflamación. Muestra el efecto inhibitorio en niveles de serum de TNF α (pg/ml) inducido por LPS en ratones (eje y) para diferentes compuestos divulgados en las reivindicaciones 1 a 7 de la invención (eje x). La reducción de este factor está directamente relacionada con la medicación antiinflamatoria. Los compuestos son los mismos que en el panel izquierdo.

65 **Figura 6.** Niveles de colesterol (A) y triglicéridos totales (B) en células 3T3-L1. Se representa en el eje vertical los niveles de colesterol (A) o de triglicéridos (B) (% lípidos totales) en función del ácido graso utilizado (eje x). Los

valores mostrados son medias \pm error estándar de la media de colesterol y triglicéridos con respecto a los lípidos totales medidos en membranas celulares mediante métodos espectrofotométricos (colesterol) o cromatografía en capa fina seguida de cromatografía de gases (triglicéridos). Los gráficos muestran los valores cuantificados en células cultivadas en ausencia (Control) o presencia de los AGPIs o D-AGPIs listados arriba.

5

Figura 7.

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

B. Relación entre la eficacia terapéutica de los AGPIs (círculos vacíos) y D-AGPIs (círculos rellenos). Cada punto es el promedio del efecto observado para todas las enfermedades estudiadas (eje Y: cambio respecto al control %) en función del número de dobles enlaces que presenta cada molécula (eje horizontal). En ambos casos las correlaciones fueron significativas ($P < 0,05$). Se observó que el efecto terapéutico depende del número de dobles enlaces que tiene la molécula, que a su vez está relacionado con la capacidad de regular la estructura de membrana. En este sentido, la presencia de un radical en los carbonos 1 y 2, presente en los D-AGPI, pero no en los AGPI, es indispensable para potenciar el efecto terapéutico de estas moléculas.

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

30 Descripción detallada

El amplio espectro de aplicaciones terapéuticas que ofrecen las moléculas D-AGPI de la fórmula (I) permite asumir ampliamente que estas moléculas D-AGPI confieren a las membranas unas propiedades estructurales específicas que permiten el proceso correcto de la actividad llevada a cabo en y a través de dichas membranas. Dicho de otro modo, muchas de las anomalías que dan lugar a diferentes tipos de enfermedades están causadas por variaciones significativas en los niveles de ciertos lípidos importantes para la función celular y/o de proteínas que interaccionan con las membranas y/o que están relacionadas con la producción de lípidos. Estas alteraciones patológicas que pueden originar diferentes tipos de enfermedades pueden ser prevenidos o revertidos por los ácidos grasos sintéticos descritos por la fórmula (I), que pueden ser utilizados eficazmente para el tratamiento de cualquier enfermedad cuya etiología esté relacionada bien con alteraciones de los niveles, de la composición, de la estructura, o de cualquier otro tipo de alteración, de los lípidos de las membranas biológicas o bien con una regulación alterada de la señalización celular como resultado de dichas alteraciones en dichos lípidos presentes en las membranas biológicas. De forma adicional, los lípidos de fórmula (I) también se pueden emplear como medicamentos cuando una enfermedad se produzca como resultado de otra alteración siempre y cuando el resultado de la modulación de las propiedades y/o funciones de membrana sea capaz de revertir el proceso patológico.

Para este estudio de los efectos terapéuticos de los ácidos grasos de esta fórmula (I) se emplearon líneas celulares en cultivo y modelos animales de varias enfermedades y se investigó la actividad de D-AGPIs y AGPIs para el tratamiento de diferentes enfermedades.

La estructura de las moléculas se muestra en las **Tablas 1, 2 y 3**. Dada la Fórmula (I), los compuestos presentan preferiblemente combinaciones de los valores de **a, b y c** tal como se muestra en la **Tabla 1**.

Además, los compuestos se nombran por un número de tres dígitos seguido por el símbolo X1 o X2. El número 1 se refiere a todos los D-AGPI usados, excepto la serie basada en C18:3 ω -6 (ácido γ -linoleico), que aparece bajo el número 2. Los dos primeros dígitos de este número representan el número de carbonos de la molécula. El tercer dígito de este número representa el número de enlaces dobles. La letra X está reemplazada por cualquiera de las letras de A a W (**Tabla 3**), estas letras A a W representan la combinación específica de **R₁** y **R₂** de Fórmula I.

Así, compuestos particularmente preferidos se identifican bajo las abreviaturas: 182X1, 183X1, 183X2, 204X1, 205X1, 226X1 y deben ser interpretados de acuerdo con las indicaciones anteriores.

Tabla 1

D-AGPI	a	b	c
Serie 182X1	6	2	3
Serie 183X1	6	3	0
Serie 183X2	3	3	3
Serie 204X1	2	4	3
Serie 205X1	2	5	0
Serie 226X1	2	6	0

5 La **Tabla 2** muestra las estructuras de algunas de las moléculas D-AGPI divulgadas en las reivindicaciones 1 a 7 de la invención y los AGPI de los cuales derivan. Como puede verse dicha tabla ilustra algunos de los compuestos de la invención con diferentes combinaciones de los valores de **a**, **b** y **c**, y donde los radicales **R₁** y **R₂** están marcados con la letra A, que indica, como se describe anteriormente, que **R₁** es H y **R₂** es OH (ver **Tabla 3**)

Tabla 2

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

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

10 La **Tabla 3** muestra las diferentes combinaciones de los radicales **R₁** y **R₂** que pueden ser combinados con los valores de a, b y c listados en la **Tabla 1**.

Tabla 3

R ₁ R ₂	H	Na	K	CH ₃ O	CH ₃ -CH ₂ O	OPO(O-CH ₂ -CH ₃) ₂
OH	A	B	C	D	E	F
OCH ₃	G			H	I	
O-CH ₃ COOH				J	K	
CH ₃		L		M	N	
Cl					O	
CH ₂ OH	P				Q	
OPO(O-CH ₂ -CH ₃) ₂					R	
NOH					S	
F					T	
HCOO				U	V	
N(OCH ₂ CH ₃) ₂					W	

EJEMPLOS

Ref. Ejemplo 1. Porcentaje de AGPI totales en membranas de células tratadas con AGPI y D-AGPI.

5 Las moléculas D-AGPI sintéticas son hidrofóbicas, por lo que las células expuestas a estos D-AGPIs presentan altos niveles de estos ácidos grasos en su superficie.

10 La **Tabla 4** muestra el porcentaje total de AGPIs en membranas de células 3T3 tratadas con 100 μ M de dichos ácidos grasos durante 48 horas. Para realizar estos experimentos, se extrajeron las membranas y se obtuvieron los ácidos grasos totales por hidrólisis en medio básico. Las bases metanólicas de dichos ácidos grasos se cuantificaron por cromatografía de gases. Los datos mostrados son medias de cuatro medidas independientes de la masa de AGPIs dividida por la de ácidos grasos totales y expresada en forma de porcentaje. También se indica el error estándar de la media. En cultivos celulares, las células 3T3 incubadas en presencia de dichos ácidos grasos presentaron niveles mayores de AGPIs (incluidos D-AGPIs) y menores niveles de ácidos grasos saturados.

15 El control corresponde a un cultivo sin la presencia de ácidos grasos naturales o sintéticos. Las células poseen de forma natural AGPIs en sus membranas, pero la presencia en el medio de las moléculas D-AGPI de fórmula (I) incrementa dichos niveles de AGPIs en la membrana celular. Por tanto estos resultados sugieren que intervenciones nutraceuticas o farmacéuticas de estos compuestos pueden regular efectivamente la composición de las membranas celulares.

20

Tabla 4

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

Ref. Ejemplo 2. Transición L (lamelar) -a- H_{II} (hexagonal) en membranas celulares de DEPE (dielaidoil fosfatidiletanolamina).

25 Las **Tablas 5 y 6** muestran la temperatura de transición lamelar-a-hexagonal (H_{II}) en membranas modelo de DEPE. La temperatura de transición se determinó mediante calorimetría diferencial de barrido. La proporción DEPE:D-AGPI fue 10:1 (mol:mol) en todos los casos. La transición lamelar-a-hexagonal es un parámetro importante que refleja propiedades de señalización importante de las membranas celulares. La propensión a formar fases H_{II}, que es más elevada al disminuir la temperatura de esta transición indica que la presión superficial de la membrana es más baja, indicando que las cabezas polares de los fosfolípidos forman una red menos densa o compacta que la formada por las estructuras lamelares (Escribá et al., 2008). Cuando esto ocurre, ciertas proteínas de membrana periféricas (como las proteínas G, proteína quinasa C o proteína Ras) pueden unirse más fácilmente a la membrana, mientras otras tienen una interacción baja (p.ej. la proteína G α), así cambios en la transición H_{II} son importantes en la regulación de funciones celulares relacionadas con la salud y las terapias humanas (Escribá et al., 1995, Vogler et al., 2004; Escribá, 2006).

30

35

40

Los valores de control corresponden a modelos de membrana en ausencia de ácidos grasos. La reducción en la temperatura de transición H_{II} obtenida usando los D-AGPI de la fórmula (I) indica una mayor inducción de discontinuidades de membrana, generando lugares de anclaje para proteínas periféricas en la membrana y da lugar a una mejor regulación de la señalización celular y, por lo tanto, una mayor eficacia para el control de ciertas enfermedades.

45

Así la **Tabla 5** muestra la temperatura de transición T_H (lamelar a hexagonal H_{II}) en membranas de DEPE (4mM) en presencia o ausencia de 200 μ M de varios compuestos de fórmula (I) de las series A.

Tabla 5

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

La **Tabla 6** muestra la temperatura de transición lamelar-a-hexagonal en membranas de DEPE en la presencia de D-AGPIs de varias series.

Tabla 6

X	182X1	183X1	183X2	204X1	205X1	226X1
B	52.1	51.9	51.0	50.2	48.3	45.1
D	51.0	51.1	49.4	48.7	47.5	43.9
E	50.6	49.8	49.3	48.4	46.7	42.9
G	51.0	50.3	50.1	49.6	47.3	44.1
O	51.7	51.2	51.3	49.7	48.6	44.2
R	52.2	51.8	49.9	50.0	48.4	44.7

5

Ref. Ejemplo 3. Unión de la proteína Gi₁ (trímero) a la membrana celular modelo.

La regulación de la composición lipídica de la membrana dio lugar a cambios en la estructura de membrana, medida por calorimetría diferencial de barrido, que da lugar a variaciones en la localización de proteínas G en membranas celulares modelo como se muestra en la **Tabla 7**. El resultado neto es una regulación de la señalización celular que da lugar a la reversión de diferentes procesos patológicos como se muestra más adelante. La **Tabla 7** muestra la unión de proteína Gii heterotrimérica a membranas modelo de fosfatidilcolina:fosfatidiletanolamina (6:4, mol:mol) medidas por ensayos de centrifugación, seguida de inmunoblot, visualización por quimioluminiscencia y cuantificación por análisis de imagen. Para estos experimentos se empleó 2 mM de fosfolípidos y 0,1 μM de los diferentes D-AGPIs indicados en la **Tabla 7**. El Control es una muestra de membranas modelo en ausencia de ácidos grasos.

Estos resultados indican que la modificación de las propiedades estructurales y funcionales de la membrana aumenta a medida que aumenta el número insaturaciones. Tanto la presencia de insaturaciones como la cambios en carbonos 1 y 2 disminuyen la tasa de metabolización de los AGPIs. Este hecho, en relación con el efecto particular de estos lípidos sobre la estructura de membrana, indica que la acción sobre las células anormales tiene una raíz común.

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

25

Tabla 7

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

30

Ejemplo 4. Uso de 1,2-derivados de AGPI para el tratamiento de cáncer.

El cáncer es una enfermedad que se caracteriza por la proliferación incontrolada de células transformadas. Como se indica anteriormente, además de ciertas alteraciones genéticas, el cáncer se caracteriza por la presencia de niveles alterados de lípidos de membrana que pueden influenciar la señalización celular. En este sentido, los AGPIs naturales mostraron alguna eficacia frente al desarrollo de células humanas de cáncer (A549) a las concentraciones empleadas en este estudio (**Figura 1**). Sin embargo, los D-AGPI mostraron una eficacia marcada y significativamente superior a las moléculas no modificadas en los carbonos 1 y 2 (**Figura 1** y **Tabla 8**) a las mismas concentraciones. Estos resultados indican que los cambios en los ácidos grasos poliinsaturados naturales para dar lugar a moléculas con una fuerte potencia antitumoral y significativamente mayor que la de los AGPIs naturales y por tanto tienen una gran utilidad en el tratamiento y prevención de enfermedades tumorales a través de enfoques farmacéuticos y nutracéuticos en humanos y animales.

Para los experimentos mostrados en la **Figura 1** se usaron células cultivadas de adenocarcinoma pulmonar humano no microcítico (A549) en medio RPMI 1640, suplementado con 10% de suero fetal bovino y antibióticos, a 37°C y 5% de CO₂. Las células se mantuvieron en cultivo durante 48 horas en presencia o ausencia de los AGPIs y D-AGPIs indicados en la **Tabla 2**, a una concentración de 250 μM. Después del tratamiento, se realizó el recuento celular y el estudio de los mecanismos implicados en la actividad antitumoral de los compuestos se evaluó a través de

45

citometría de flujo. La **Figura 1** muestra el porcentaje de supervivencia celular (siendo asignado el 100% a las células tumorales no tratadas). Estos valores corresponden a medias de 3 experimentos independientes. En series separadas, los compuestos de la **Tabla 3** se usaron contra diferentes tipos de tumores que se muestran en las **Tablas 8A, 8B y 8C**. Estas tablas muestran la eficacia antitumoral de los compuestos de esta fórmula (I) contra el crecimiento de células de cáncer de mama, de cerebro (glioma), y de cáncer de pulmón. La eficacia se expresa con los valores IC₅₀ (valores de concentraciones μM que producen la muerte de 50% de las células tumorales) después de 72 horas de incubación. Las otras condiciones experimentales son idénticas a las descritas en el párrafo precedente.

Los resultados indican claramente que todos los D-AGPIs son altamente efectivos contra el desarrollo de tumores. En general, puede verse que las series de compuestos A y B son las mejores, y por ello se probó la efectividad de estas series contra el desarrollo de leucemia y cáncer de hígado (**Tablas 9 y 10**). También se puede argumentar que los compuestos de las series 204 y 226, es decir, los D-AGPIs numerados con un número par de insaturaciones más grandes en tamaño, son los más efectivos. Estos resultados indican la existencia de una relación estructura-función en la actividad farmacológica que también va a favor de la tesis de un mecanismo de acción común relacionado con la estructura de cada compuesto y, por tanto, de la unidad de invención en esta sección.

La **Tabla 8A** muestra la eficacia de los compuestos de fórmula (I) para el control del crecimiento de células de cáncer de mama MDA-MB-231, expresada en valores IC₅₀ micromolares.

Tabla 8A

Series Moleculares Subseries X	182X1	183X (1)	183X (2)	204X1	205X1	226X1
A	388	380	347	381	390	187
B	379	267	156	345	208	195
C	386	289	168	389	223	210
D	277	245	175	281	2	224
E	289	319	193	299	284	207
F	311	323	181	326	275	226
G	378	364	159	372	219	213
H	402	308	170	363	282	199
I	411	274	210	315	261	241
J	287	296	221	285	228	235
K	375	381	238	317	240	208
L	343	306	173	332	253	216
M	362	407	164	321	216	267
N	297	278	186	274	289	222
O	286	267	217	298	264	249
P	419	349	214	370	301	250
Q	328	312	205	306	247	263
R	371	305	172	285	245	204
S	388	291	189	293	270	211
T	391	290	216	317	233	199
U	410	344	228	369	272	227
V	442	326	241	352	298	215
W	391	311	203	311	256	246

La **Tabla 8B** muestra la eficacia de los compuestos de la fórmula (I) contra el crecimiento de células U118 (glioma), expresada en valores IC₅₀ micromolares.

Table 8B

Series Moleculares Subseries X	182X1	183X (1)	183X (2)	204X1	205X1	226X1
A	197	397	372	197	400	214
B	198	202	377	396	391	196
C	208	nd	379	287	442	237
D	221	nd	385	311	467	241
E	213	nd	nd	224	513	265
F	236	354	401	275	498	261
G	205	329	394	342	426	278
H	267	408	443	263	439	294
I	240	321	432	328	510	327
J	254	296	426	296	487	283
K	221	257	418	380	474	272
L	229	231	460	247	435	269
M	238	349	407	309	462	306
N	247	324	385	315	513	285
O	nd	370	nd	nd	nd	277
P	nd	285	389	291	432	290
Q	nd	282	392	324	419	254
R	255	307	454	501	468	267
S	203	316	416	462	475	315
T	214	368	423	385	427	263
U	212	343	380	263	454	342
V	231	274	402	345	510	269
W	246	nd	438	287	443	318

La **Tabla 8C** muestra la eficacia de los compuestos de la fórmula (I) contra el crecimiento de células de cáncer de pulmón A549 expresada en valores IC₅₀ micromolares.

Table 8C

Series Moleculares Subseries X	182X1	183X (1)	183X (2)	204X1	205X1	226X1
A	944	200	192	243	394	195
B	196	195	197	413	202	198
C	635	281	241	521	325	214
D	541	326	267	372	364	221
E	387	294	243	475	413	209
F	354	347	259	392	338	286
G	439	273	295	427	407	273
H	462	319	219	398	290	247
I	673	348	276	459	351	298
J	321	281	259	362	416	215
K	274	276	2	414	275	250
L	385	285	283	326	362	221
M	286	322	248	375	293	208
N	329	379	255	420	384	236
O	452	344	318	461	418	264
P	328	317	272	387	339	291
Q	293	273	314	348	365	252
R	317	258	274	364	417	219
S	458	341	246	439	293	265
T	379	367	279	352	322	243
U	255	294	287	270	426	270
V	340	320	291	326	325	298
W	416	352	212	341	420	302

5

La **Tabla 9** muestra la eficacia de los compuestos divulgados en las reivindicaciones 1 a 7 de la invención contra el desarrollo de leucemia humana (células Jurkat). Valores de IC₅₀ micromolares a las 72 horas.

Table 9

Series Moleculares Subseries X	182X	183X (1)	183X (2)	204X1	205X1	226X1
A	713	198	184	62	376	85
B	377	196	184	104	294	175

10

La **Tabla 10** muestra la eficacia de los compuestos divulgados en las reivindicaciones 1 a 7 contra el desarrollo del cáncer de hígado (células HepG2). Valores de IC₅₀ micromolares a las 72 horas.

Table 10

Compound X	182X1	183X (1)	183X (2)	204X1	205X1	226X1
A	212	380	380	192	401	164

5
10
15
20
25
30
35
40

Todos estos resultados indican que los D-AGPIs son útiles para la prevención y tratamiento de cáncer incluidos en composiciones nutraceuticas y farmaceuticas en humanos y animales. Asimismo, se observó que la potencia de acción de los D-AGPI está correlacionada con el aumento del número de dobles enlaces y que la presencia de cambios en carbonos 1 y 2 es esencial para que la potencia antitumoral de los lípidos tenga relevancia a nivel terapéutico. Dado que estos compuestos tienen un efecto antitumoral contra un amplio rango de células tumorales, puede afirmarse que son moléculas con un espectro antitumoral amplio y pueden ser de aplicación general contra el desarrollo de cualquier cáncer.

Ref. Ejemplo 5. Uso de 1,2-derivados de AGPI para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares.

15
20
25
30
35
40

Para investigar la utilidad de los D-AGPI para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares, varios planteamientos experimentales fueron utilizados. Primero se investigó la eficacia de los compuestos de fórmula (I) en células de aorta en cultivo (línea celular A-10). Estas células se mantuvieron en cultivo con medio completo (C, suplementado con 10% de suero fetal bovino y PDGF) y medio incompleto (CSS, suplementado con 1% de suero fetal bovino sin PDGF). Los cultivos se realizaron de forma similar a como se describe en el apartado anterior, durante un período de 72 horas de manera similar a la descrita en el párrafo anterior. Tras dicho período de incubación, se realizó el recuento de células mediante citometría de flujo.

5
10
15
20
25
30
35
40

En el medio incompleto (CSS, control sin suplemento de PDGF), las células tienen un comportamiento proliferativo, similar al que se produce en un organismo sano. El comportamiento proliferativo que se produce en medio completo sería una situación similar a la que se produce en un organismo patológico. La presencia de D-AGPI produjo una reducción significativa de la proliferación de células normales de aorta A-10 en medio de cultivo completo, con agentes proliferativos presentes en el suero fetal incluido en el medio de cultivo. En presencia de agentes proliferativos (citoquinas, factores de crecimiento, etc.), los recuentos de células A10 fueron similares a los obtenidos en medio incompleto (CSS) con la presencia de los D-AGPI de fórmula (I) (**Figura 2**). A diferencia de éstos, los AGPI mostraron una baja o nula eficacia antiproliferativa, lo que demuestra que la modificación introducida sobre estos ácidos grasos aumenta sustancialmente su potencial farmacológico para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares, como la hipertensión, la arteriosclerosis, la isquemia, las cardiomiopatías, aneurismas, ictus, angiogénesis, infarto, angina, embolia (accidente cerebrovascular), etc. Los efectos en esta línea celular no se pueden considerar tóxicos por dos motivos: (1) En medio completo, los D-AGPIs no indujeron nunca reducciones en la proliferación celular por debajo de los niveles celulares de las células incubadas en medio incompleto; y (2) las células de aorta (A10) tratadas con D-AGPIs no mostraron signos moleculares o celulares de necrosis, apoptosis o cualquier otro tipo de muerte celular. Dado que la proliferación de células vasculares está implicada en el desarrollo de numerosas patologías cardiovasculares, los D-AGPIs son útiles para la prevención y tratamiento de dichas enfermedades a través de enfoques nutraceuticos y farmaceuticos en humanos y animales.

5
10
15
20
25
30
35
40

En una serie diferente, cardiomiocitos de rata se aislaron y cultivaron *in vitro* durante 24 horas, tras lo cual se midieron una serie de parámetros. Primero, se midió el número, longitud y amplitud de las células en cultivo. Se observó que todos los compuestos de las series A y B (182-226) fueron capaces de incrementar el número de células que sobrevivieron en cultivo (entre 12% y 33%) y su longitud y amplitud (entre 18% y 42%). Además, estos compuestos inducen disminuciones en la liberación de lactato deshidrogenasa (LDH) inducida por anoxia (reducciones de entre 9% y 68% para todos los compuestos de las series A y B). Estos resultados indican que las moléculas D-AGPI de fórmula (I) tienen un efecto protector en células cardiovasculares e incrementan su elasticidad, que puede ser para prevenir y tratar enfermedades vasculares y del corazón de varios tipos como hipertensión, arteriosclerosis, isquemia, cardiomiopatías, aneurismas, ictus, angiogénesis, hiperplasia cardíaca, infarto, angina, embolia (accidente cerebrovascular), circulación sanguínea defectuosa, etc.

5
10
15
20
25
30
35
40

En una serie experimental separada, se estudió el efecto de moléculas D-AGPI de fórmula (I) en la presión arterial de ratas SHR. En estos animales, se midieron la presión arterial y los niveles de apolipoproteína AI (apoA-I). Para estos experimentos ratas hipertensas espontáneamente (SHR) fueron tratadas durante 30 días con vehículo (control con agua) o con compuestos de fórmula (I) (200 mg/kg al día, p.o.). Al final de este período, se midió la presión arterial y los niveles de apoA-I de estos animales. Los resultados muestran la capacidad de reducción de la presión arterial, y de inducir la expresión de apoA-I, de los compuestos de fórmula (I), indicando que estas moléculas son útiles en el tratamiento de la hipertensión y la arteriosclerosis (**Tabla 11**). Para estos experimentos, se utilizaron métodos no invasivos para determinar la presión arterial (método puño-cola) y la expresión genética de apoA-I (RT-

PCR) descritos en la literatura (Terés et al., 2008). La utilidad de las moléculas de fórmula (I) en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares está reforzada por su capacidad para reducir los niveles séricos de colesterol y triglicéridos (ver a continuación).

- 5 La **Tabla 11** muestra la presión arterial (mm Hg) y los niveles de apoA-I (%) en ratas SHR. Los valores medios en SHR antes del tratamiento fueron de 214 mm Hg y 100% respectivamente.

Tabla 11

Compuesto X	182X1	183X (1)	183X (2)	204X1	205X1	226X1
A	204	201	189	205	193	194
B	146	134	311	131	346	324
F	201	197	182	202	187	186
L	178	151	285	144	264	333
N	198	203	191	199	195	202
P	192	146	279	163	319	357
V	207	205	194	197	198	200
	131	125	268	188	376	296
	187	208	194	201	189	199
	159	189	296	174	293	348
	202	201	187	203	194	193
	184	178	347	153	337	382
	207	199	198	198	191	195
	166	152	282	161	315	324

10

Ref. Ejemplo 6. Uso de 1,2-derivados de AGPI para el tratamiento de obesidad.

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

20 Estos resultados demuestran que los D-AGPIs tienen un elevado potencial para inhibir el crecimiento de células grasas y, por ello, para la prevención y el tratamiento la obesidad y otros procesos relacionados con la acumulación de adipocitos corporales a través de enfoques nutracéuticos o farmacéuticos en animales y humanos. El efecto observado, de nuevo, mostró una clara correlación con el número de dobles enlaces de las moléculas empleadas y con la presencia de modificaciones en los carbonos 1 y 2 de la molécula lipídica.

25

Además, se usaron varios compuestos relacionados a la fórmula (I) para estudiar su efecto en el peso corporal de ratas (**Figura 3B**). En ese sentido, ratas hipertensas espontáneamente (SHR) tratadas con los compuestos 182-226 (series A, B, N y P) mostraron reducciones en su peso corporal tras 1 mes de tratamiento con 200 mg/kg (reducciones de 3,2% a 6,9%) causadas en parte por una reducción en la ingesta de alimento y en parte por la inhibición de la proliferación de células grasas (la caída de peso no fue tan marcada en animales no tratados alimentados con la misma cantidad de alimento que en animales tratados). Estos resultados muestran que estos compuestos pueden ser utilizados para el control del peso corporal (obesidad y sobrepeso), control del apetito y regulación de la grasa corporal (celulitis).

30

35 **Ref. Ejemplo 7. Uso de 1,2-derivados de AGPI para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas.**

En estos estudios, se usaron distintos modelos de neurodegeneración. Primero, se emplearon células P19, cuya diferenciación neuronal se indujo con ácido trans-retinoico. Para ello, las células P19 se incubaron en medio esencial mínimo (α -MEM), suplementado con 10% de suero fetal bovino, y 2 μ M de ácido trans-retinoico, a 37°C en presencia de 5% de CO₂. Las células se incubaron en presencia o ausencia de varios AGPIs y D-AGPIs a diferentes concentraciones durante 24 horas. El efecto neurotóxico se indujo con 1 μ M de NMDA. Posteriormente, se contó el número de células mediante microscopía óptica en presencia de azul de tripan. Estos experimentos demostraron que los AGPIs tienen un efecto protector sobre la degeneración neuronal, aunque el efecto mediado por los D-AGPIs es mucho mayor (**Figura 4** y **Tabla 12**). En dichas figura y tabla es claro que las moléculas D-AGPI de fórmula (I) protegen contra la muerte neuronal, dado que inhiben la muerte neuronal inducida por NMDA, por lo que estas sustancias pueden ser útiles en la prevención y tratamiento de enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer, esclerosis, la enfermedad de Parkinson, leucodistrofia, etc. Se ha mostrado también que el número de células en cultivo tratadas es mayor que en cultivos donde no se añadieron agentes neurodegenerativos. En particular, valores de muerte celular negativos indican que el número de células P19 es

40

45

mayor que en la situación de control. Por tanto, los compuestos D-AGPI de fórmula (I) pueden ser usados para promover procesos neuroregenerativos como los producidos por procesos traumáticos (accidentes) o agentes tóxicos.

5 La **Tabla 12** muestra el efecto protector contra la muerte neuronal en células P19: la inhibición de muerte neuronal (células P19) con D-AGPIs de fórmula (I) después de tratamiento con NMDA (100% de muerte). Las células de control sin NMDA mostraron un nivel de muerte de celular del 0%. Todos los porcentajes por debajo de 100% indican protección contra la muerte neuronal. Valores negativos indican que en adición a la protección de la muerte neuronal hay también un nivel de proliferación neuronal. Más aun, los compuestos de fórmula (I) hacen que disminuyan los niveles de α -sinucleína (**Tabla 13**), una proteína que está asociada con procesos neurodegenerativos como el Parkinson, Alzheimer, demencia de Lewy, atrofia sistémica múltiple, enfermedades de priones, etc. Por tanto, las moléculas de fórmula (I) pueden ser usadas en la prevención y el tratamiento de procesos neurodegenerativos, neuroregenerativos, neurológicos y neuropsiquiátricos.

15 **Tabla 12**

X	182X1	183X1	183-X2	204X1	205X1	226X1	C (NMDA)
A	-60	-55	-70	-70	-50	-230	100
B	-62	-58	-66	-71	-52	-222	100
F	-45	-35	-36	-46	-44	-189	100
L	-32	-21	-29	-27	-35	-117	100
V	-17	-9	-18	-11	-27	-86	100

La **Tabla 13** muestra la expresión de α -sinucleína en cultivos neuronales (células P19). C (control) representa el % de α -sinucleína en células no tratadas (100%).

20

Tabla 13

X	182X1	183X1	183-2X	204X1	205X1	226X1	C
A	50	45	40	41	35	23	100
B	61	43	38	36	41	31	
F	71	61	52	52	57	41	
L	80	76	73	69	67	64	
V	83	87	89	82	81	77	

Para probar la eficacia de los compuestos de fórmula (I) para inducir neuroregeneración o inhibir neurodegeneración, se utilizó un modelo animal de la enfermedad de Alzheimer. En este modelo ratones desarrollan neurodegeneración porque expresan una serie de proteínas mutantes que dan lugar a daño cerebral (ratones Alzh). Ratones B6 se usaron como animales sanos de control. Ambos grupos de animales fueron tratados durante un periodo de 3 meses con vehículo (agua) o con varios D-AGPI (20 mg/kg diariamente po) desde que tuvieron 3 meses de edad. Para determinar si la mejora cognitiva se produjo después del tratamiento, el comportamiento animal fue monitorizado en el laberinto radial. Los animales fueron mantenidos con una dieta restrictiva para tener apetito. En un laberinto radial simétrico de 8 brazos, se colocaron marcas visibles para facilitar la orientación del animal y el alimento (tabletas de 15 mg) se colocó en 4 de los brazos. Se midió el tiempo que utilizó cada animal para completar el ejercicio, y el número de errores, usando una cámara ligada a un ordenador. En este sentido, los animales con Alzheimer tienen valores aproximadamente 50% más elevados que los animales sanos, tanto por el tiempo que utilizaron para realizar el ejercicio como por el número de errores realizados (**Figura 4B**). En contraste, los ratones con Alzheimer tratados con 226B1 (Alzh+LP226) presentan parámetros de comportamiento similares a los de animales de control y significativamente ($P < 0,05$) más bajos que los animales tratados con vehículo (Alzh). En este sentido, también se comprobó la eficacia de los compuestos 183B1, 205A1, 205B1, 226A1, 226V1, presentando mejoras en animales con la enfermedad de Alzheimer (tiempos de 98, 92, 93, 86 y 89 segundos respectivamente). Por otro lado, es también interesante que los mismos compuestos (183B1, 205A1, 205B1, 226A1, 226B1 y 226V1) también produjeron reducciones en los tiempos utilizados para completar el experimento, de 8s, 11s, 12s, 18s, 16s y 14s respectivamente, en animales de control (ratones sanos B6). Por tanto, puede concluirse que estos compuestos tienen una actividad significativa contra la neurodegeneración y en la neuroregeneración. Entre los procesos neurodegenerativos que podrían ser prevenidos y tratados con moléculas D-AGPI de fórmula (I)

40

se encuentran la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson, el síndrome de Zellweger, la esclerosis múltiple, la esclerosis lateral amiotrófica, la esclerosis del hipocampo y otros tipos de epilepsia, esclerosis focal, adrenoleucodistrofia y otros tipos de leucodistrofias, demencia vascular, demencia senil, demencia de Lewy, atrofia sistémica múltiple, enfermedades de priones, etc. Además, se puede utilizar la actividad neuroregenerativa, evidenciada por el efecto tanto en ratones con Alzheimer como en ratones sanos B6, en procesos en los que se ha producido una pérdida neuronal como resultado de un accidente, operación quirúrgica, un trauma de diferentes índoles o debidos a ciertas toxinas. Las moléculas D-AGPI de fórmula (I) pueden ser utilizadas en la prevención o el tratamiento de diferentes problemas neurológicos y/o neuropsiquiátricos como los dolores de cabeza incluyendo la migraña, lesión del sistema nervioso central, desordenes del sueño, vértigo, dolor, embolia (accidentes cerebrovasculares), depresión, ansiedad, adiciones, problemas de memoria, aprendizaje o cognitivos, y para mejorar la memoria y habilidades cognitivas de seres humanos.

Ref. Ejemplo 8. Uso de 1,2-derivados de AGPI para el tratamiento de enfermedades inflamatorias.

La ciclooxigenasa (COX) es un enzima que puede unirse a las membranas, tomando ciertos lípidos de estas y catalizando su conversión en moléculas que pueden tener actividad inflamatoria. La unión de esta enzima a los lípidos de membrana es debida en parte a la estructura lipídica de la membrana. El incremento de la actividad de las isoformas COX 1 y 2 se ha asociado con la etiopatología de un número de enfermedades inflamatorias mediante la inhibición del metabolismo del ácido araquidónico para producir mediadores lípidos pro-inflamatorios. Los compuestos D-AGPI de fórmula (I) produjeron una serie de señales celulares que alteran el metabolismo del ácido araquidónico y, como resultado, inhiben la actividad y expresión de COX en monocitos en cultivos (Tabla 14 y Figura 5). Además, los D-AGPI de fórmula (I) inhibieron la producción de citoquinas pro-inflamatorias (TNF- α) in vivo (Tabla 15 y Figura 5). Con este propósito, ratones C57BL6/J fueron tratados con los distintos derivados (200 mg/kg, p.o.) después de haber inducido una reacción inflamatoria en ellos mediante inyección intraperitoneal de 20 μ g de lipopolisacárido bacteriano (LPS). Estos resultados indican claramente la eficacia de los D-AGPI de fórmula (I) para prevenir o revertir procesos y patologías inflamatorias.

La Tabla 14 muestra la expresión de COX-2 en monocitos en cultivo. Inhibición de la expresión de COX-2 en monocitos. Porcentajes de inhibición (comparados con el control positivo en presencia de LPS, 100%) de niveles de proteína COX-2 (expresión) para los varios derivados de ácidos grasos.

Tabla 14

X	182X	183X1	183X2	204X1	205X1	226X1	C (LPS)
A	24	20	23	17	31	23	100
B	39	33	29	28	39	37	
F	56	46	36	41	47	49	
L	67	65	48	47	53	69	
V	81	79	68	43	76	85	

La Tabla 15 muestra la producción de TNF- α (%) en ratones: porcentaje de TNF- α en suero tras inyección de LPS (20 μ g) intraperitonealmente en ratones C57BL6/J (100%).

Tabla 15

X	182X1	183X1	183X2	204X1	205X1	226X1	C (LPS)
A	64	70	71	24	56	73	100
B	79	81	78	26	69	83	
F	86	91	86	46	80	91	
L	85	86	91	49	76	88	
V	81	84	87	42	84	85	

Estos resultados muestran que las moléculas de fórmula (I) pueden ser útiles para prevenir o tratar enfermedades inflamatorias, incluyendo inflamación, inflamación cardiovascular, inflamación causada por tumores, inflamación de origen reumático, inflamación causada por infección, inflamación respiratoria, inflamación crónica y aguda, hiperalgesia de tipo inflamatorio, edema, inflamación resultado de traumas o quemaduras, etc.

Ref. Ejemplo 9. Uso de 1,2-derivados de AGPI para el tratamiento de enfermedades metabólicas.

Los lípidos son moléculas esenciales para mantener las funciones metabólicas. Los tratamientos con AGPI produjeron reducciones modestas en los niveles de colesterol y triglicéridos en células 3T3-L1. Sin embargo, los tratamientos con D-AGPI dieron lugar a reducciones marcadas y significativas en los niveles de colesterol y triglicéridos en estas células. Para estos experimentos, se incubaron las células arriba indicadas en medio RPMI 1640 en presencia de 10% de suero fetal bovino, a 37°C y con 5% CO₂, y en presencia o ausencia de 150 µM de diferentes AGPI o D-AGPI. Las células se incubaron durante 24 h y posteriormente se realizó la extracción de lípidos y se midieron los niveles de colesterol y triglicéridos siguiendo procedimientos descritos anteriormente (Folch et al., 1961).

En una serie experimental separada, ratas SHR fueron tratadas con varios compuestos de formula (I) (200 mg/kg a diario, 28 días, p.o.) y se midieron mediante métodos colorimétricos los niveles de colesterol, triglicéridos y glucosa en suero. Se observó que estos compuestos inducen reducciones significativas (y en muchos casos marcadas) en los niveles de estos metabolitos (**Tabla 16**).

Los resultados mostrados en la **Figura 6** y en la **Tabla 16** indican claramente que los D-AGPIs pueden utilizarse como fármacos para el tratamiento o la prevención de enfermedades metabólicas, como la hipercolesterolemia, la hipertrigliceridemia, la diabetes, y la resistencia a la insulina, en humanos y animales, a través de enfoques farmacéuticos o nutracéuticos. La combinación de niveles elevados de colesterol y triglicéridos, glucosa elevada, junto con alteraciones cardiovasculares y/o de peso corporal da lugar al “síndrome metabólico”, que empieza a aumentar en sociedades occidentales. Los compuestos de formula (I) tienen un gran potencial terapéutico para tratar el síndrome metabólico.

La **Tabla 16** muestra los niveles de colesterol, triglicéridos y glucosa en ratas SHR. Muestra el valor de colesterol (número superior), triglicéridos (número central) y glucosa (número inferior) en suero de SHR tratadas con las moléculas descritas anteriormente (200 mg/kg diariamente, p.o. 28 días). Los valores están expresados como porcentaje, y en ratas no tratadas (control) los valores fueron siempre considerados como 100%.

Tabla 16

Compuesto X	182X1	183 X(1)	183X(2)	204X1	205X1	226X1
	78	76	79	72	69	64
A	91	81	78	77	74	71
	84	87	82	85	82	79
	89	75	77	71	58	59
B	72	66	76	69	65	62
	87	84	86	89	87	81
	92	78	84	76	71	67
F	88	71	87	81	83	78
	89	76	85	84	82	86
	89	82	83	83	79	71
L	93	77	79	82	78	74
	94	85	92	91	85	87
	92	72	89	82	80	75
N	93	69	85	81	73	72
	90	84	92	82	86	83
	94	75	84	84	85	81
V	93	70	92	81	79	84
	93	79	88	87	84	89

Ref. Ejemplo 10. Bases estructurales de los efectos terapéuticos de los 1,2-derivados de AGPIs.

Numerosos estudios han demostrado que la ingesta o tratamiento con lípidos da lugar a cambios en la composición lipídica de las membranas celulares. Por otro lado, dicha composición tiene un efecto directo sobre la estructura lipídica de la membrana, que a su vez regula la señalización celular y está relacionada con la aparición de numerosas enfermedades. La **Figura 7** muestra la correlación existente entre los cambios que producen en la estructura de membrana los diferentes D-AGPIs (medidos por la temperatura de transición H₁₁) y los efectos celulares

observados en este estudio. Para ello, se determinó la media del efecto producido por cada uno de los D-AGPIa (promedio de cada lípido para todas las enfermedades estudiadas en función del número de dobles enlaces) y los resultados se han representado frente a la temperatura de transición. La reducción en la temperatura de transición H_{II} indica una mayor inducción de discontinuidades en membranas, lo cual genera lugares de anclaje para proteínas periféricas en la membrana y da lugar a una mejor regulación de la señalización celular y, por lo tanto, una mayor eficacia para el control de ciertas enfermedades. En cierta medida, el hecho de que organismos complejos puedan metabolizar fármacos y que ciertos mecanismos adicionales puedan operar en algunos tipos (subtipos) de enfermedades, sugiere que algunas de las moléculas con menor número de dobles enlaces pueda tener mayor actividad farmacológica. Sin embargo, en general, parece que el efecto terapéutico depende del número de dobles enlaces que tiene la molécula, que a su vez está relacionado con la capacidad de regular la estructura de las membranas. En este sentido, la presencia de radicales en los carbonos 1 y/o 2 en los compuestos D-AGPI de fórmula (I), pero no en los AGPIs naturales, es esencial para potenciar el efecto terapéutico de estas moléculas. Estos resultados indican que los efectos de los lípidos recogidos en esta fórmula (I) tienen una base común. Estas correlaciones (con valores de r^2 de 0,77 y 0,9 para los D-AGPIs y $P < 0,05$ en ambos casos) indican claramente que la estructura de los lípidos utilizados es la base de su efecto y que el mismo se produce a través de la regulación de la estructura de membrana, originada por la relación estructura-función de cada lípido.

Así, la presente invención se refiere en un primer aspecto a compuestos, o sus sales, para uso en el tratamiento del cáncer, tal como se divulga en las reivindicaciones 1 a 3. También se describe en este documento compuestos de fórmula (I), o sus derivados farmacéuticamente aceptables donde **a**, **b** y **c** pueden tener valores independientemente entre 0 y 7 y **R₁** y **R₂** pueden ser independientemente un ion, átomo o grupo de átomos con un peso molecular que no excede 200 Da, para uso en el tratamiento de enfermedades basadas en alteraciones estructurales y/o funcionales características de los lípidos de la membrana celular seleccionadas entre: cáncer, enfermedades vasculares, inflamación, enfermedades metabólicas, obesidad, enfermedades neurodegenerativas y desórdenes neurológicos.

Un segundo aspecto de la presente invención se refiere al uso de compuestos, o de sus sales, tal como se divulga en las reivindicaciones 1 a 3, para la preparación de una composición farmacéutica y/o nutracéutica para el tratamiento del cáncer. También se describe en este documento al menos un compuesto de fórmula (I), o sus derivados farmacéuticamente aceptables, donde **a**, **b** y **c** pueden tener valores independientemente entre 0 y 7, y **R₁** y **R₂** pueden ser independientemente un ion, átomo o grupo de átomos con un peso molecular que no excede 200 Da, para la elaboración de una composición farmacéutica y/o nutracéutica destinada al tratamiento de enfermedades basadas en alteraciones estructurales y/o funcionales de los lípidos de la membrana celular seleccionadas entre: cáncer, enfermedades vasculares, inflamación, enfermedades metabólicas, obesidad, enfermedades neurodegenerativas y desórdenes neurológicos. El último aspecto se refiere a un método para el tratamiento terapéutico de enfermedades en humanos y animales cuya etiología común está relacionada con alteraciones estructurales y/o funcionales de los lípidos localizados en la membrana celular seleccionadas entre: cáncer, enfermedades vasculares, inflamación, enfermedades metabólicas, obesidad y enfermedades neurodegenerativas y neurológicas; que comprende la administración al paciente de una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un compuesto de fórmula (I), y/o de sus sales farmacéuticamente aceptables o derivados, donde **a**, **b** y **c** pueden tener valores independientes entre 0 y 7, y **R₁** y **R₂** pueden ser independientemente un ion, átomo o grupo de átomos con un peso molecular que no excede 200 Da.

REFERENCIAS

- Alemany et al. 2004. Hypertension, 43 249.
- Alemany et al. 2007. Biochim Biophys acta, 1768, 964
- Buda et al. 1994. Proc Natl Acad Sci U.S.A., 91, 8234
- Coles et al. 2001. J Biol Chem, 277, 6344
- Escribá et al. 1995. Proc Natl Acad Sci U.S.A., 92, 7595
- Mail et al. 1997. Proc. Natl. Acad. Sci USA., 94, 11 375
- Escriba et al 2003. Hypertension, 41, 176
- Escriba 2006. Trends Mol Med, 12, 34
- Escriba et al. in 2008. J Cell Mol Med, 12, 829
- Florent et al. 2006. J Neurochem., 96, 385
- Folch et al. 1951. J Biol Chem, 191.83
- Jackson and Schwartz 1992. Hypertension, 20, 713
- Jung et al. in 2008. Am J Clin Nutr 87, 2003S
- Lane and Farlow 2005. J Lipid Res, 46, 949
- Martinez et al. 2005. Mol Pharmacol., 67, 531
- Martin et al. 2008. Chemistry and Physics of Lipids 154S, S48
- Rapoport 2008. Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids 79, 153-156
- Sagin and Sozmen 2008. J Lipid Res, 46, 949
- Schwartz et al. 1986. Circ Res 58, 427
- Stender and Dyerberg 2004. Ann Nutr Metab., 48, 61

- Terés et al., 2008. Proc. Natl. Acad. Sci USA, 105, 13 811
- Trombetta et al. 2007. Chem Biol Interact., 165, 239
- Vogler et al 2004. J. Biol Chem, 279, 36 540
- Vogler et al 2008. Biochim Biophys Act, 1778, 1640
- Yang et al.2005. Mol Pharmacol., 68, 210

5

REIVINDICACIONES

1. Compuesto, o sus sales, para uso en el tratamiento o prevención del cáncer, donde dicho compuesto está seleccionado entre:
- 5 COOH-CHOH-(CH₂)₆-(CH=CH-CH₂)₂-(CH₂)₃-CH₃ (182A1),
 COOH-CHOH-(CH₂)₆-(CH=CH-CH₂)₃-CH₃ (183A1),
 COOH-CHOH-(CH₂)₃-(CH=CH-CH₂)₃-(CH₂)₃-CH₃ (183A2),
 COOH-CHOH-(CH₂)₂-(CH=CH-CH₂)₄-(CH₂)₃-CH₃ (204A1),
 COOH-CHOH-(CH₂)₂-(CH=CH-CH₂)₅-CH₃ (205A1) and
 10 COOH-CHOH-CH₂-(CH=CH-CH₂)₆-CH₃ (226A1).
2. Un compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 1, donde dicho compuesto es COOH-CHOH-CH₂-(CH=CH-CH₂)₆-CH₃.
- 15 3. Un compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 1, donde dicho compuesto es COOH-CHOH-(CH₂)₆-(CH=CH-CH₂)₂-(CH₂)₃-CH₃.
4. Composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto, o sus sales, donde el compuesto está seleccionado entre los siguientes:
- 20 COOH-CHOH-(CH₂)₆-(CH=CH-CH₂)₂-(CH₂)₃-CH₃ (182A1),
 COOH-CHOH-(CH₂)₆-(CH=CH-CH₂)₃-CH₃ (183A1),
 COOH-CHOH-(CH₂)₃-(CH=CH-CH₂)₃-(CH₂)₃-CH₃ (183A2),
 COOH-CHOH-(CH₂)₂-(CH=CH-CH₂)₄-(CH₂)₃-CH₃ (204A1),
 COOH-CHOH-(CH₂)₂-(CH=CH-CH₂)₅-CH₃ (205A1) y
 25 COOH-CHOH-CH₂-(CH=CH-CH₂)₆-CH₃ (226A1).
5. Composición nutracéutica que comprende al menos un compuesto, o sus sales, donde el compuesto está seleccionado entre los siguientes:
- 30 COOH-CHOH-(CH₂)₆-(CH=CH-CH₂)₂-(CH₂)₃-CH₃ (182A1),
 COOH-CHOH-(CH₂)₆-(CH=CH-CH₂)₃-CH₃ (183A1),
 COOH-CHOH-(CH₂)₃-(CH=CH-CH₂)₃-(CH₂)₃-CH₃ (183A2),
 COOH-CHOH-(CH₂)₂-(CH=CH-CH₂)₄-(CH₂)₃-CH₃ (204A1),
 COOH-CHOH-(CH₂)₂-(CH=CH-CH₂)₅-CH₃ (205A1) y
 35 COOH-CHOH-CH₂-(CH=CH-CH₂)₆-CH₃ (226A1).
6. Una composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 4 y 5, donde dicho compuesto es COOH-CHOH-CH₂-(CH=CH-CH₂)₆-CH₃.
- 40 7. Una composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 4 y 5, donde dicho compuesto es COOH-CHOH-(CH₂)₆-(CH=CH-CH₂)₂-(CH₂)₃-CH₃.

Figura 1

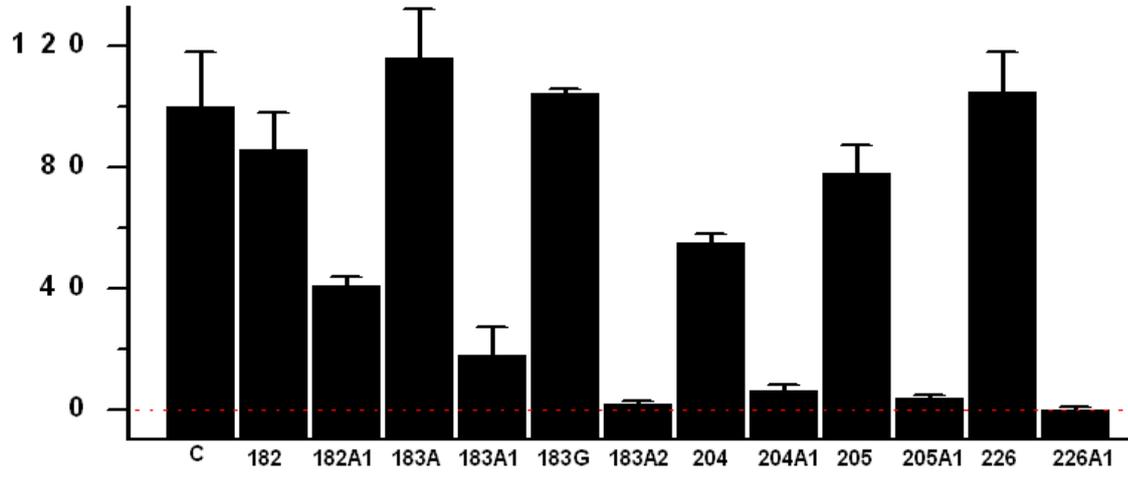


Figura 2

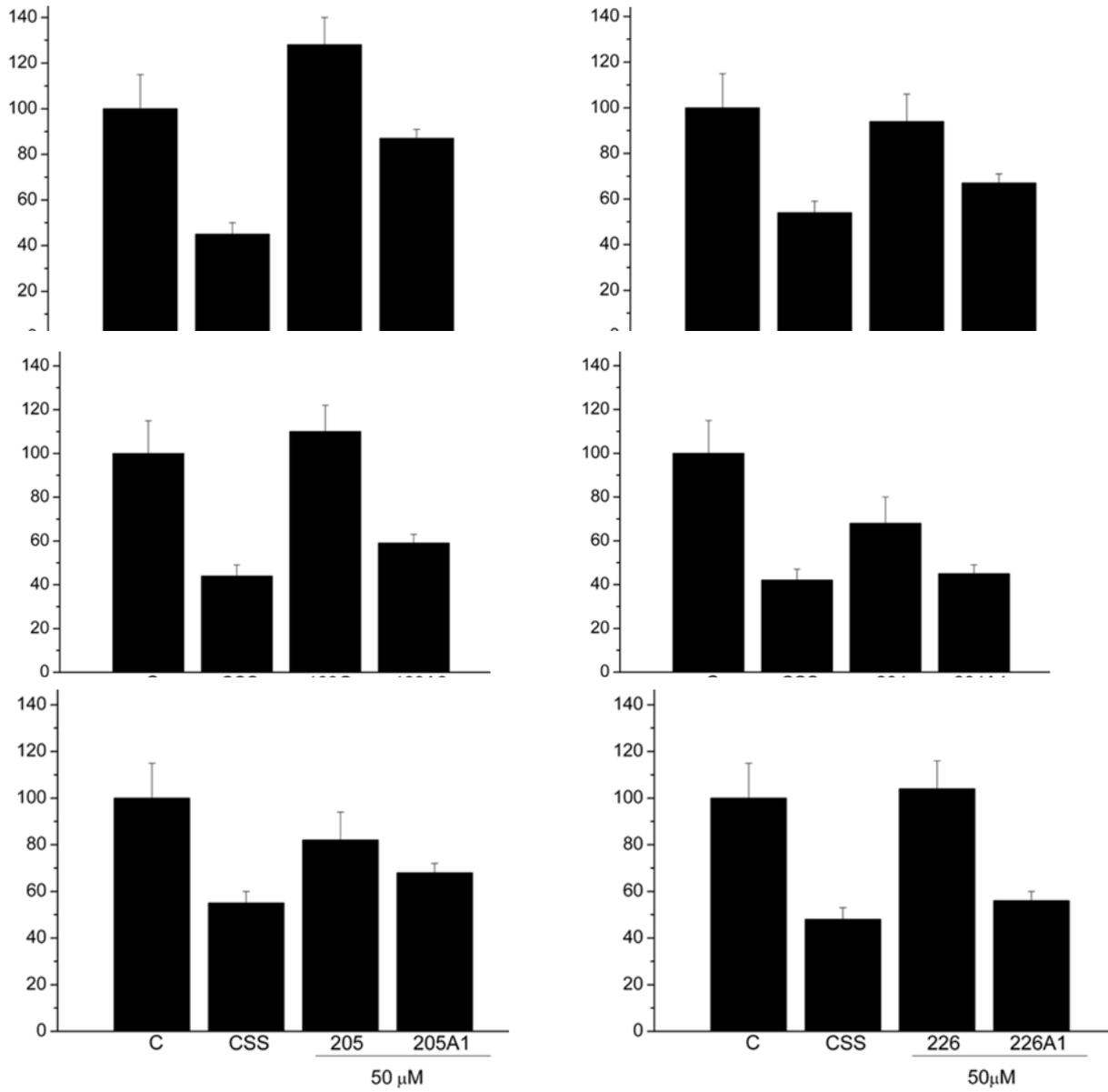
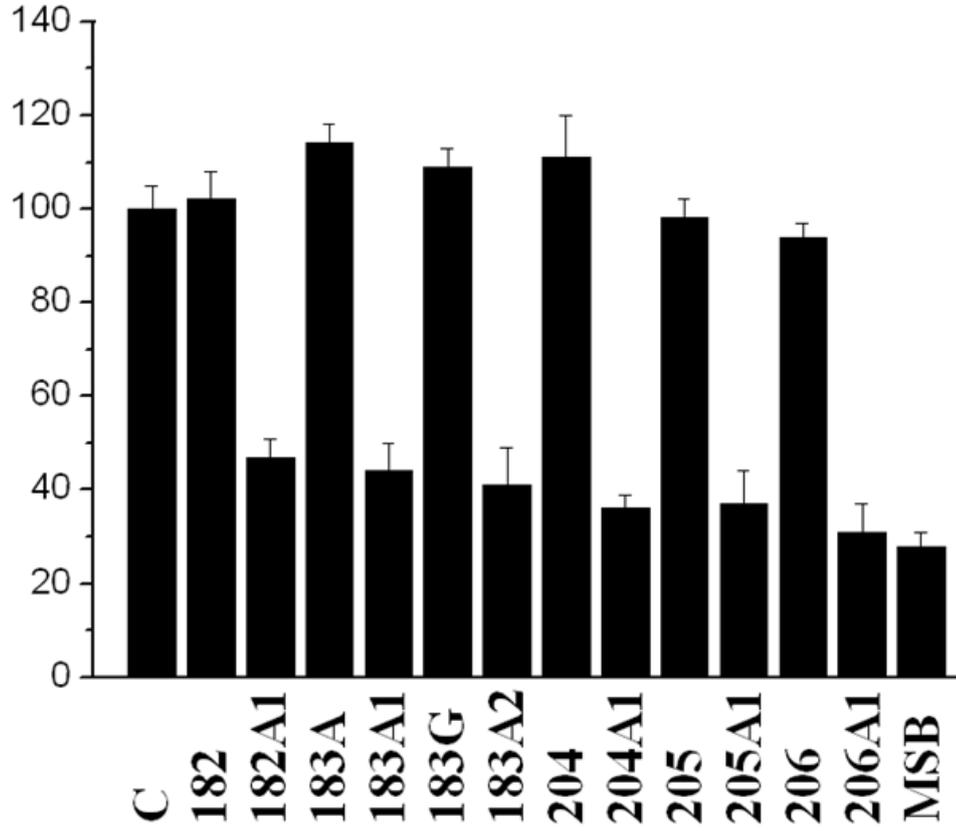


Figura 3

A



B

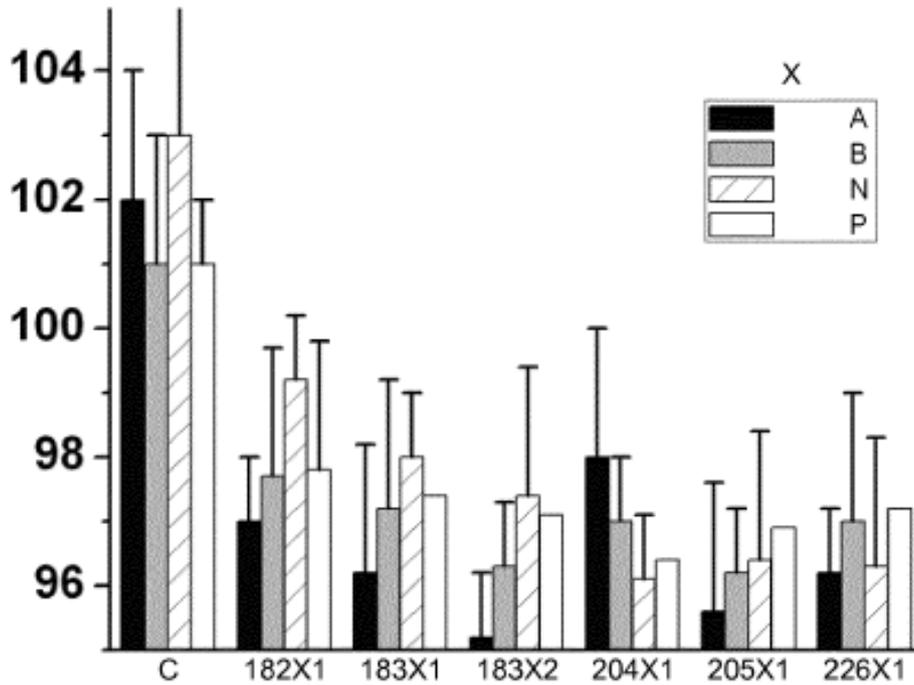
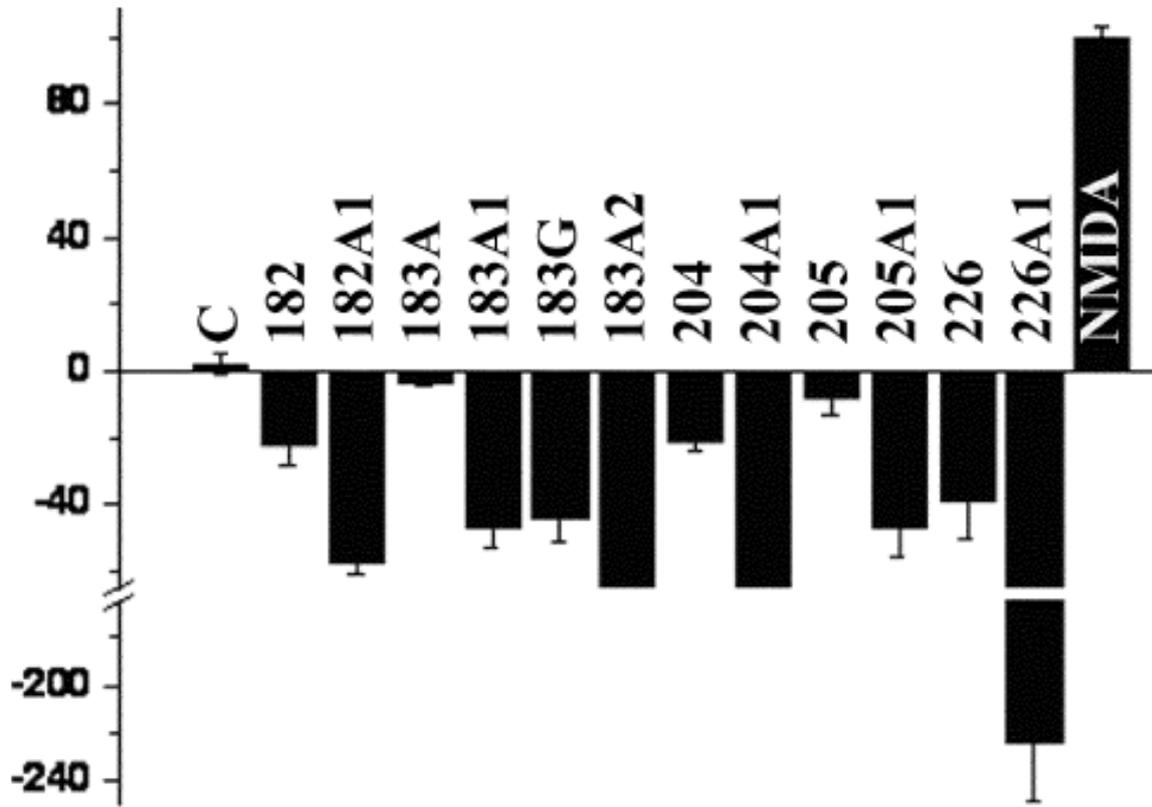


Figura 4

A



B

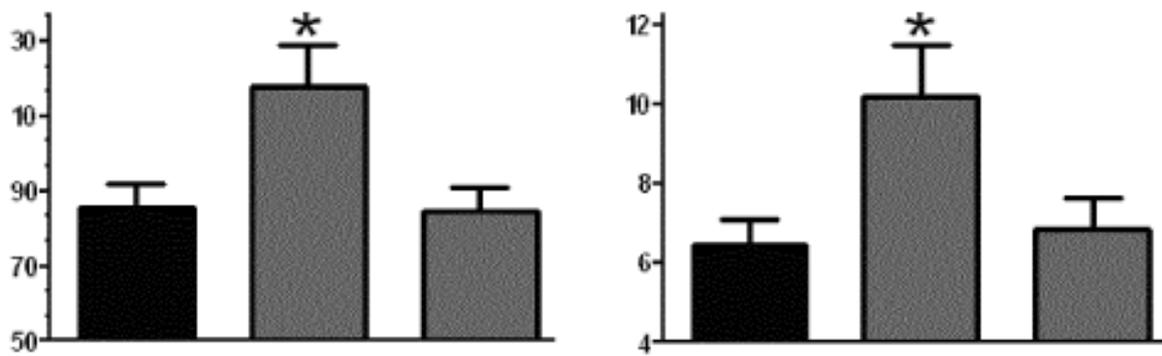
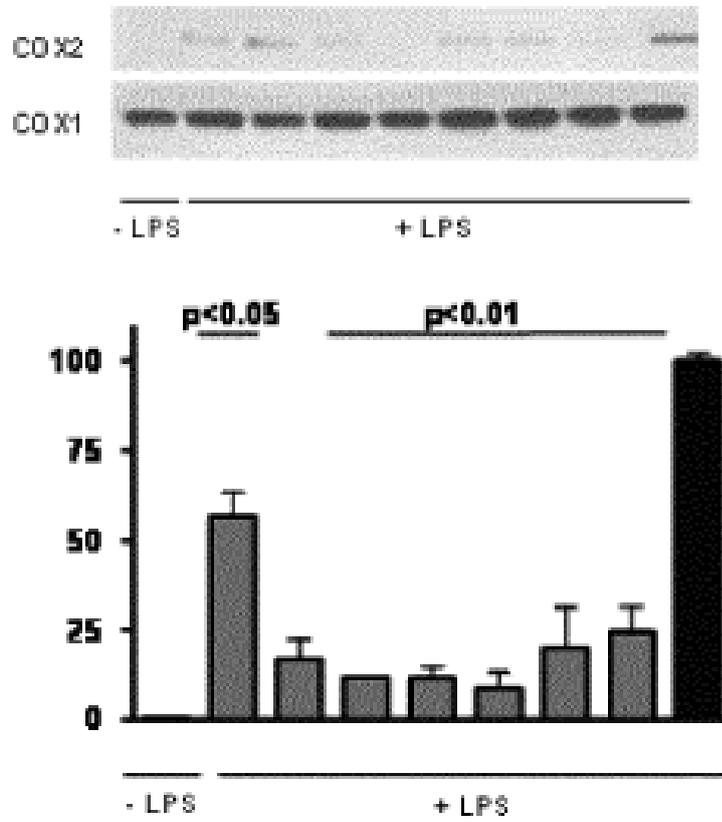


Figura 5

A



B

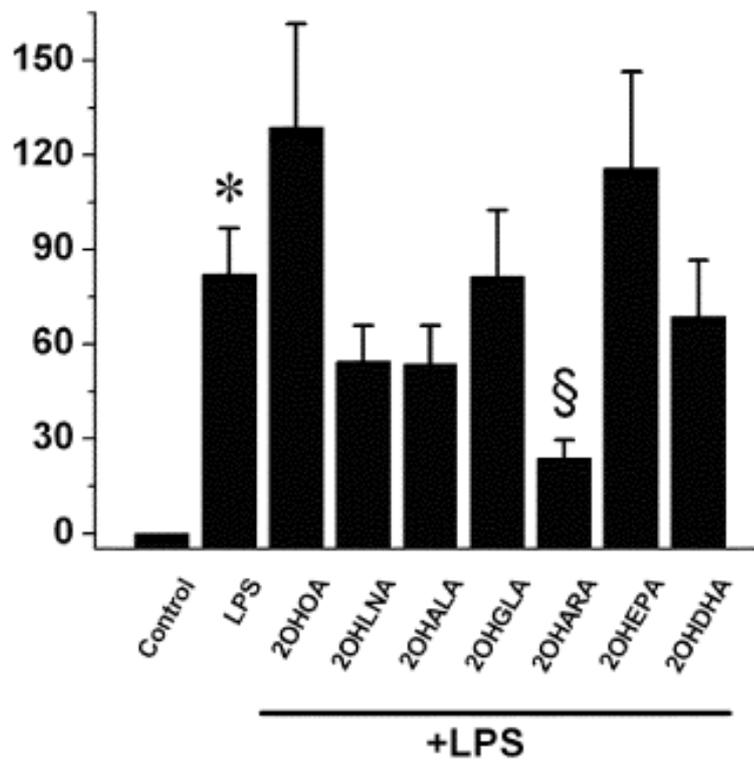


Figura 6 A

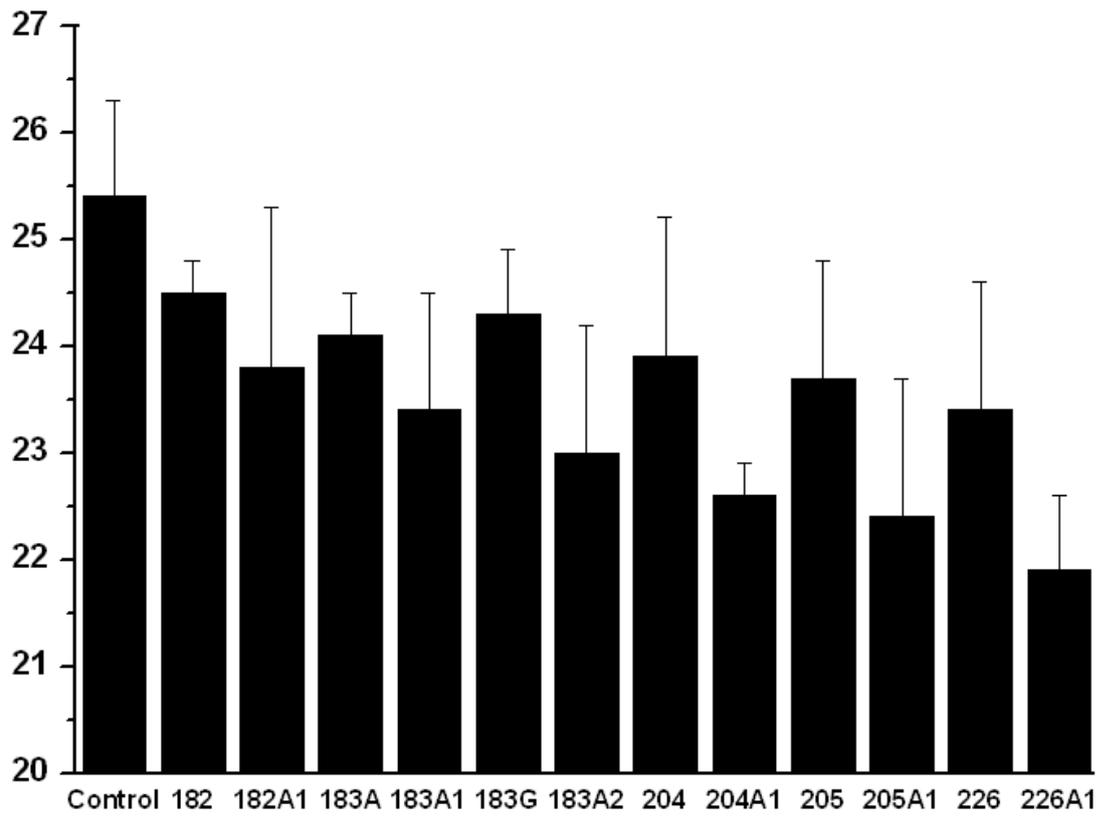


Figura 6B

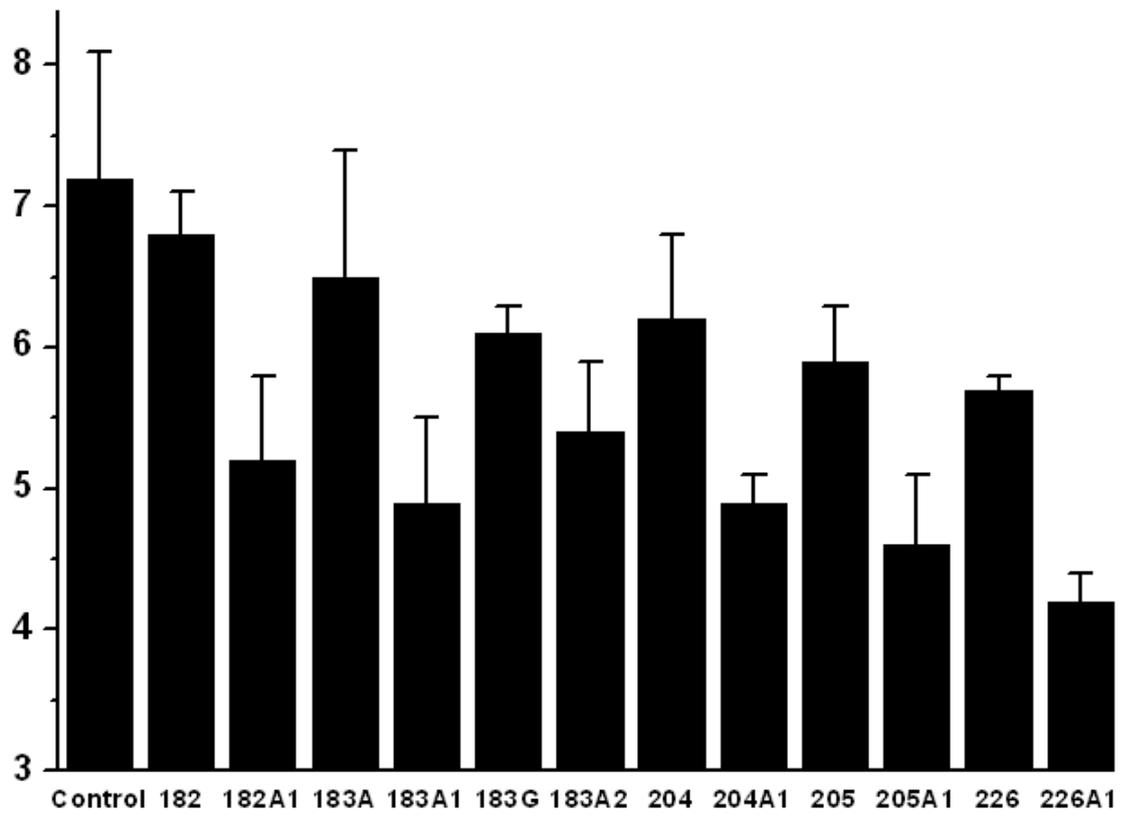


Figura 7A

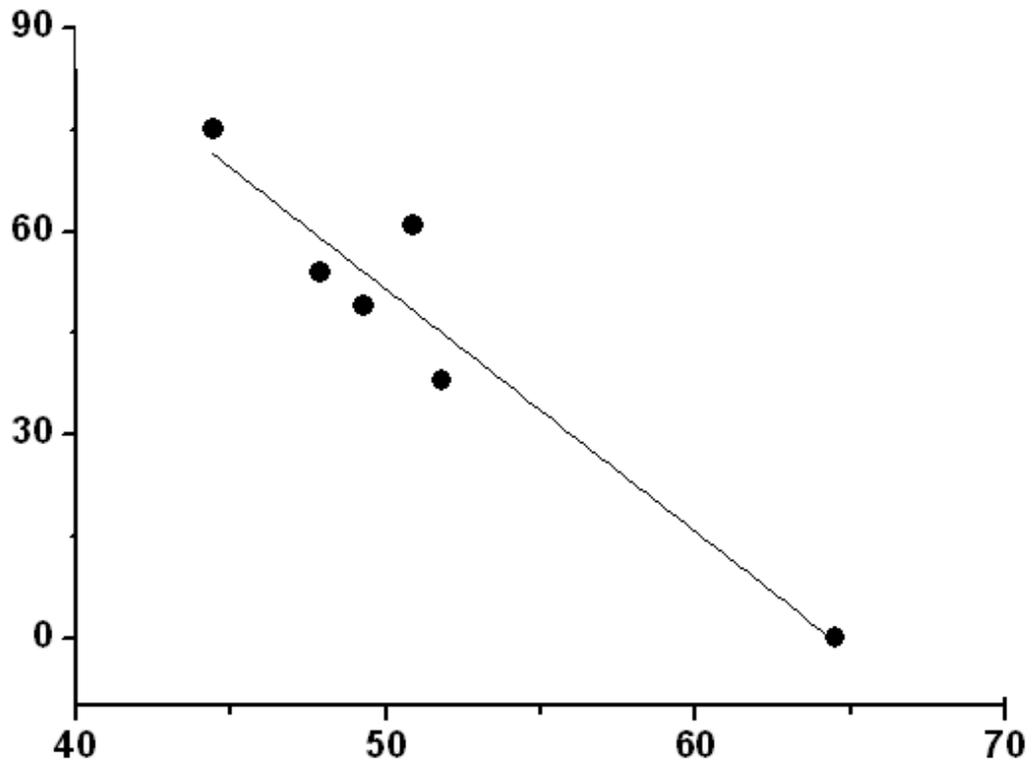
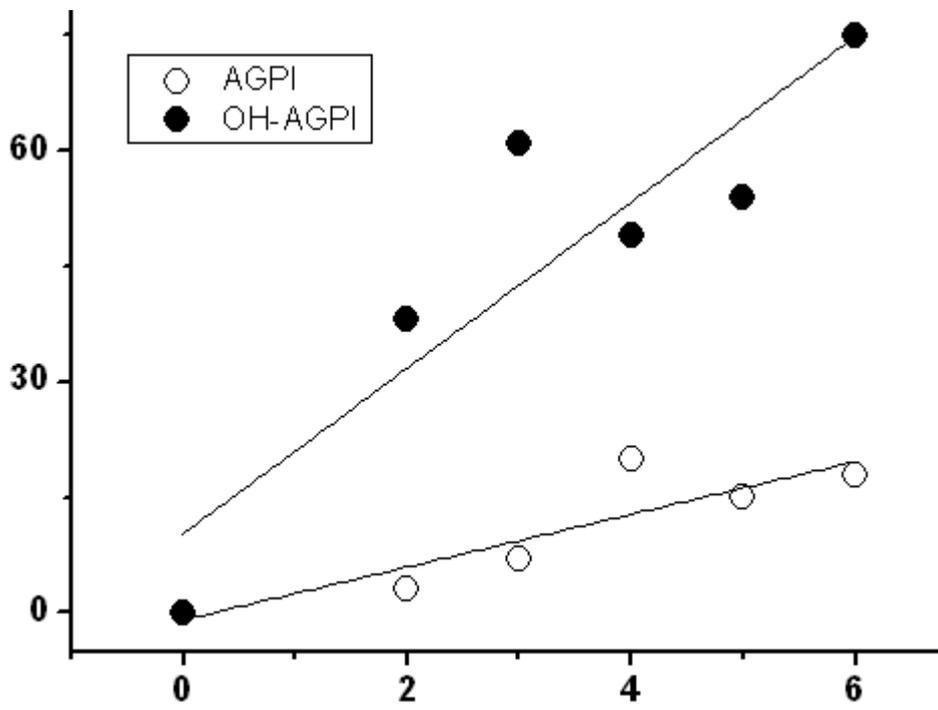


Figura 7B



REFERENCIAS CITADAS EN LA DESCRIPCION

Este listado de referencias citado por el solicitante es solamente para la conveniencia del lector. No forma parte del documento de patente europea. Si bien se ha tenido gran cuidado en la compilación de las referencias, no pueden excluirse errores u omisiones y la OEP declina toda responsabilidad al respecto.

Literatura no patente citada en la descripción

- **ALEMANY et al.** *Hypertension*, 2004, vol. 43, 249
- **ALEMANY et al.** *Biochim Biophys Acta*, 2007, vol. 1768, 964
- **BUDA et al.** *Proc Natl Acad Sci U.S.A.*, 1994, vol. 91, 8234
- **COLES et al.** *J Biol chem*, 2001, vol. 277, 6344
- **ESCRIBÁ et al.** *Proc Natl Acad Sci U.S.A.*, 1995, vol. 92, 7595
- **MAIL et al.** *Proc. Natl. Acad. Sci USA.*, 1997, vol. 94 (11), 375
- **ESCRIBA et al.** *Hypertension*, 2003, vol. 41, 176
- **ESCRIBA.** *Trends Mol Med*, 2006, vol. 12, 34
- **ESCRIBA et al.** *J Cell Mol Med*, 2008, vol. 12, 829
- **FLORENT et al.** *J Neurochem.*, 2006, vol. 96, 385
- **FOLCH et al.** *J Biol Chem*, 1951, vol. 191, 83
- **JACKSON; SCHWARTZ.** *Hypertension*, 1992, vol. 20, 713
- **JUNG et al.** *Am J Clin Nutr*, 2008, vol. 87, 2003S
- **LANE; FARLOW.** *J Lipid Res*, 2005, vol. 46, 949
- **MARTINEZ et al.** *Mol Pharmacol.*, 2005, vol. 67, 531
- **MARTIN et al.** *Chemistry and Physics of Lipids*, 2008, vol. 154S, S48
- *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids*, 2008, vol. 79, 153-156
- **SAGIN ; SOZMEN.** *J Lipid Res*, 2008, vol. 46, 949
- **SCHWARTZ et al.** *Circ Res*, 1986, vol. 58, 427
- **STENDER ; DYERBERG.** *Ann Nutr Metab.*, 2004, vol. 48, 61
- **TERÉS et al.** *Proc. Natl. Acad. Sci USA*, 2008, vol. 105 (13), 811
- **TROMBETTA et al.** *Chem Biol Interact.*, 2007, vol. 165, 239
- **VOGLER et al.** *J. Biol Chem*, 2004, vol. 279 (36), 540
- **VOGLER et al.** *Biochim Biophys Act*, 2008, vol. 1778, 1640
- **YANG et al.** *Mol Pharmacol.*, 2005, vol. 68, 210