



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

⑪ Número de publicación: **2 229 935**

⑫ Número de solicitud: 200302364

⑬ Int. Cl.:

A23L 1/29 (2006.01)

A61K 31/20 (2006.01)

A61P 9/00 (2006.01)

A61P 3/04 (2006.01)

⑭

PATENTE DE INVENCION

B1

⑮ Fecha de presentación: **10.10.2003**

⑯ Fecha de publicación de la solicitud: **16.04.2005**

Fecha de la concesión: **28.08.2006**

⑰ Fecha de anuncio de la concesión: **01.10.2006**

⑱ Fecha de publicación del folleto de la patente:
01.10.2006

⑲ Titular/es: **Universitat de les Illes Balears**
Ctra. de Valldemossa, Km. 7,5
07120 Palma de Mallorca, Baleares, ES

⑳ Inventor/es: **Escriba Ruiz, Pablo Vicente**

㉑ Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

㉒ Título: **Utilización del ácido hidroxioleico y compuestos análogos del mismo como aditivos alimentarios funcionales.**

㉓ Resumen:

Utilización del ácido hidroxioleico y compuestos análogos del mismo como aditivos alimentarios funcionales.

Se describe la utilización del ácido hidroxioleico y análogos de fórmula general I: $\text{COOH-CHR}-(\text{CH}_2)_m\text{-CH=CH}-(\text{CH}_2)_n\text{-CH}_3$, en que m y n tienen independientemente un valor de 0-15 y R puede ser cualquier residuo de masa molecular inferior a 200 Da, en la fabricación y/o preparación de aditivos y/o ingredientes alimentarios, productos dietéticos, formas alimentarias aceptables y alimentos en general enfocados a mejorar parámetros relacionados con patologías cardiovasculares, como la hipertensión y la obesidad.

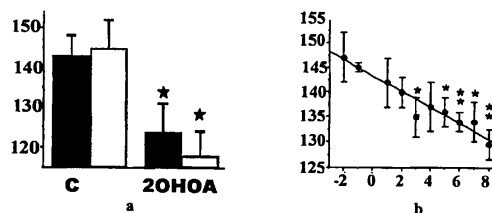


FIG. 4

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 37.3.8 LP.

DESCRIPCIÓN

Utilización del ácido hidroxioleico y compuestos análogos del mismo como aditivos alimentarios funcionales.

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a la aplicación del ácido hidroxioleico (2-hidroxioleico) y moléculas de estructura análoga como aditivos alimentarios con propiedades preventivas frente al desarrollo de patologías cardiovasculares y obesidad, comúnmente denominados aditivos funcionales.

10 La presente invención también se refiere a la utilización del ácido 2-hidroxioleico y análogos para la fabricación de productos alimenticios.

Antecedentes de la invención

15 Los ácidos grasos son moléculas de amplia utilización, tanto en alimentación como en industria. Diferentes productos dietéticos contienen éste tipo y otros tipos de grasas. Entre ellos, destacan los aceites (oliva, soja, girasol, onagra, sésamo, etc.), las mantecas/mantequillas (animales) y margarinas (vegetales), cuya composición consiste en más de un 95% de grasas. Otros muchos productos alimentarios contienen grasas vegetales y/o animales en mayor o menor medida, teniendo en algunos casos propiedades preventivas frente al desarrollo de patologías de diversa índole, como por ejemplo los ácidos grasos omega-3. Usualmente, los ácidos grasos aparecen en productos alimenticios y dietéticos en dos formas: libres (usualmente en pequeños porcentajes) o unidos a otras moléculas como fosfolípidos, ésteres de colesterol, triglicéridos, etc. (forma principal de presentación de los ácidos grasos). Sea cual sea la forma de presentación, en la mayoría de productos alimenticios y dietéticos, así como en la naturaleza en general, los ácidos grasos no suelen tener modificaciones importantes. Sin embargo, se ha demostrado que hay ácidos grasos hidroxilados en grandes cantidades (hasta un 60%) en los aceites de ciertas semillas vegetales (Moon *et al.*, 2001, Plant Physiol. 127, 1635). Sin embargo, la abundancia de ácidos grasos hidroxilados en la naturaleza varía mucho entre diferentes organismos y sistemas biológicos.

30 En este contexto, el ácido 2-hidroxioleico, cuya síntesis ha sido descrita con anterioridad (Adam *et al.*, 1998, Eur. J. Org. Chem. 9, 2013-2018), ha sido utilizado de forma industrial como emulsionante para preparaciones de productos cosméticos. Los ácidos grasos hidroxilados son conocidos por su capacidad emulsionante, siendo utilizados por ello como tales en alimentos entre otras aplicaciones.

35 Así, por ejemplo, por un lado, la patente JP 10182338 se refiere a una composición emulsionante de aceite en agua que muestra baja irritabilidad y elevada compatibilidad con sales, que contiene: [A] tensioactivos no iónicos tales como monolaurato de polioxietileno sorbitol, monooleato de polioxietileno sorbitol y monoestearato de polioxietileno sorbitol, [B] ácidos grasos 2-hidroxi C10-C22 tales como el ácido 2-hidroxiesteárico, [C] aceites y [D] agua, en donde la relación A/B está comprendida entre 1:0,01 y 1:2.

40 En esta misma línea, como emulsionantes, la patente JP 09110635 se refiere a composiciones, útiles como productos farmacéuticos, cosméticos y productos alimentarios que contiene: [A] ésteres de ácido graso poliglicerilo, [B] ácidos grasos 2-hidroxi C10-C22, [C] aceites y [D] agua, donde la relación en peso de A/C y B/C es de 2,0 y 0,5 respectivamente, y muestra tamaños de partícula medio comprendidos entre 10 y 300 nm. Estas composiciones muestran buena estabilidad incluso en condiciones ácidas o de baja viscosidad o en presencia de elevadas cantidades de sales, siendo por tanto compatibles con la piel.

50 En nuestra patente anterior WO 03/030891 se mostraba el uso del ácido hidroxioleico y de compuestos análogos en la fabricación de medicamentos útiles como agentes antitumorales, agentes con actividad hipotensora y como agentes capaces de inducir reducciones del peso corporal. Estos efectos terapéuticos de los compuestos farmacéuticos fabricados a base del ácido hidroxioleico y sus análogos, parecían venir mediados por la regulación que ejercen estos compuestos de la estructura de membrana, regulando por ende la actividad y/o localización de proteínas G y, consiguientemente, la actividad de los receptores acoplados a las mismas. El objeto ahora de la presente invención es reivindicar el efecto de prevención de patologías cardiovasculares y obesidad del ácido hidroxioleico y sus análogos, como suplementos nutricionales en la dieta.

Las estructuras hexagonales de membrana

60 Los lípidos de membrana son capaces de ordenarse en mayor número de estructuras secundarias que las proteínas y ácidos nucleicos. La bicapa lipídica típica de las membranas biológicas es sólo una de dichas configuraciones secundarias. Se desconoce mucho sobre la abundancia y papeles de otras estructuras secundarias en células vivas. En un trabajo previo se aporta una función de estas estructuras: aumentar la afinidad de unión de proteínas G a membranas (Escribá PV, Ozaita A, Ribas C, Miralles A, Fodor E, Farkas y García-Sevilla JA; 1997 Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA 94, 11375-11380).

65 El concepto de estructura de membrana va mucho más allá de lo expuesto en algunas de las patentes del estado de la técnica (WO 87/04926 y WO 89/11286), en las que sólo se menciona la fluidez de membrana. En la invención se

extiende el concepto a un campo mucho más amplio: la estructura de membrana. Las moléculas recogidas en nuestra patente actúan sobre la transición o paso de estructura lamelar a hexagonal. (Figura 1).

Los receptores acoplados a proteínas G son ubicuos, constituyendo el 80% de los receptores de membrana que transmiten señales iniciadas por neurotransmisores, hormonas, neuromoduladores, citocinas, factores de crecimiento, etc. Entre otros procesos fisiológicos regulan la presión arterial y el peso corporal. Por ello, las moléculas descritas en esta invención pueden regular dichos procesos fisiológicos.

A la vista de los antecedentes citados, no existe todavía en el estado de la técnica otras aplicaciones relacionadas con el ácido 2-hidroxioléico o de análogos del mismo que sean de especial interés en el campo de la alimentación para prevenir el desarrollo de las patologías cardiovasculares y obesidad.

Tan sólo se describen productos dietéticos (GB 2140668, EP 0611568 y WO 02/00042) o extractos de cultivos de *M. cryophilus* (WO 89/11286), que consisten en mezclas complejas de diferentes compuestos que incluyen alguno emparentado con los descritos en la invención, tales como los ácidos grasos, particularmente el oleico y el palmitoleico, por ejemplo, pero sin adscribir a ninguno de los integrantes de la mezcla contemplados en dichas patentes, un papel específico en dicho efecto terapéutico, de prevención de patologías cardiovasculares.

Se ha estudiado el efecto de la composición lipídica de las células en el desarrollo de hipertensión (Escribá *et al.*, Hypertension 41, 176-182; 2003). En este sentido, se ha observado que la composición diferencial de los lípidos que forman la membrana está implicada en el desarrollo de la hipertensión y el control dietético de la composición (y por lo tanto la estructura) de la membrana está implicado en la normalización de la misma. Este efecto viene regulado por la capacidad que tiene la estructura de membrana de regular la localización y actividad de proteínas G, como se mencionó anteriormente.

Tenemos conocimiento de otras patentes en el Estado de la Técnica que describen la utilización como fármacos del ácido hidroxioléico o sus análogos en indicaciones relacionadas con las aquí propuestas.

Así WO 02/43662 muestra un complemento nutricional a base de ácido linoleico, ácido DHA, vitaminas E, G, B6, B12 y ácido fólico junto con calcio, útil para reducir los niveles altos de colesterol y la presión sanguínea elevada. También la patente CN 1098920, describe composiciones orales líquidas a base de aceite de sámara (rico en ácido linoleico y vitamina E) útiles como agentes hipotensores, hipocolesterdímicos y en el tratamiento de la hepatitis, la nefritis y otras enfermedades. El ácido linoleico no es objeto de esta invención. US 5059622 y US 6140304, inciden en esta misma indicación terapéutica, utilizando los ácidos eicosapentanoico y γ -linoleico. La hipertensión ligada a la apoplejía cerebral, también se ha descrito (GB 2140688) que puede ser tratada a base de ácido palmitoleico. En el Estado de la Técnica también encontramos dietas que incluyen di/triglicéridos de ácidos grasos como compuestos que ayudan a quemar grasas (WO 200211552) para ácidos grasos ω -3 insaturados < 20 átomos de C o que ayudan a reducir peso (WO 2001091587), para ácidos grasos de 4-14 átomos de C. Los triglicéridos no son objeto de esta invención. En WO 02/00042 se describen ácidos grasos de 12-24C, particularmente palmitoleico y oleico, que inducen la sensación de saciedad. El mecanismo de control de peso de la invención no viene mediado por la regulación de la sensación de saciedad.

Con respecto a la modificación del estado de la membrana, ésta ya ha sido descrita (WO 89/11286 -palmitoleico-; WO 87/04926, (12-28C monoinsaturados), pero mediante mecanismos que tienen que ver con cambios en su fluidez, no con transiciones estructurales. Asimismo, se conoce el uso del Ácido Nervónico como suplemento nutricional en niños recién nacidos o prematuros y mujeres embarazadas (WO 96/05740), pero para prevenir enfermedades como la esclerosis múltiple. Incluso se han empleado preparados de alimentación enteral para pacientes que padecen de cáncer, a base, entre otros de ácido oleico, linoleico o eicosapentanoico (EP 0611568).

Ninguna de estas indicaciones se reivindica en la presente invención.

Descripción resumida de la invención

La presente invención tiene por objeto encontrar nuevas aplicaciones del ácido 2-hidroxioléico y compuestos análogos del mismo no descritas en el estado de la técnica, ni que resulten obvias a partir del mismo.

El objetivo de la presente invención es demostrar que el ácido 2-hidroxioléico y sus análogos poseen actividad como aditivos alimentarios funcionales capaces de prevenir patologías cardiovasculares a través de la inducción de la reducción de la presión arterial y del peso corporal. La adición de hidroxioléico en productos de alimentación humana y en cantidades que por su consumo se pueden considerar de naturaleza dietética (en el rango de hasta 0,5 gramos por kilogramo de peso corporal y por día) produce importantes beneficios en parámetros relacionados directamente con patologías de naturaleza cardiovascular: la presión arterial y el peso corporal.

Las aplicaciones que se describen a continuación para el ácido 2-hidroxioléico y sus análogos no han sido citadas por nadie previamente y su uso puede resultar beneficioso para la prevención de ciertas patologías, a través de su inclusión en la dieta. En particular, se ha encontrado que el ácido 2-hidroxioléico y sus análogos presentan actividad cardiovascular, induciendo reducciones en la presión arterial y del peso corporal.

En la presente invención se justifican las nuevas aplicaciones del ácido 2-hidroxioléico y sus análogos utilizando modelos experimentales celulares y animales. Estos modelos de análisis indican, sin lugar a dudas, que el ácido 2-hidroxioléico y sus análogos son unas moléculas que pueden utilizarse en la fabricación de alimentos destinados al consumo humano con la finalidad de prevenir enfermedades cardiovasculares.

El uso reivindicado de los compuestos de la invención debe entenderse de aplicación en el ámbito alimentario en su acepción más amplia posible e incluyen, entre otros: aditivos y/o ingredientes alimentarios, productos dietéticos, formas alimentarias aceptables y alimentos en general.

Descripción detallada de la invención

En la presente invención por "ácido 2-hidroxioléico" se entiende indistintamente ácido α -hidroxioléico, ácido octadecenoico C18:1 cis $\Delta 9$ o ácido 9-cis-2-Hidroxi-octadecenoico. Por sus análogos funcionales se entienden aquellos ácidos grasos que tengan el doble enlace desplazado una o dos posiciones de la zona central o que tengan el doble enlace desplazado de una a cinco posiciones de la zona central y/o tengan de uno a seis átomos de carbono (Grupos CH_2) a cada lado del doble enlace y/o que tengan un residuo (R) en posición 2 diferente al OH, con una masa atómica pequeña y que no sea H (Mw igual o inferior a 200 Da). Es indiferente que el estereoisómero correspondiente a la proyección del grupo R sea R ó S. En función de las diferentes moléculas ensayadas, se ha observado que aquellas que tienen las fórmulas generales indicadas a continuación presentan unos efectos similares al ácido hidroxioléico y que, por lo tanto, se pueden catalogar como análogos funcionales del mismo.

Fórmula general I: $\text{COOH-CHR-(CH}_2)_m\text{-CH=CH-(CH}_2)_n\text{-CH}_3$ en donde m y n tienen independientemente un valor de 0-15 y R puede ser H, OH, NH_2 , CH_3 , u otro residuo de masa molecular inferior a 200 Da.

En la presente invención por "Proteínas G" se entiende proteínas fijadoras de nucleótidos de guanina, formadas por tres subunidades (una alfa, una beta y una gamma) que transmiten señales de receptores acoplados a proteínas G hacia efectores (adenilil ciclasa, guanilil ciclasa, fosfolipasa C, canales iónicos, etc.).

En la presente invención se entiende por estructura de membrana la estructura secundaria u ordenación de los lípidos en membranas naturales o sintéticas (liposomas).

En la presente invención se entiende por formas dietéticamente aceptables, cualquiera de las usadas rutinariamente en el sector, incluyendo, de forma no limitativa: ésteres, especialmente los etílicos por sus propiedades solubilizantes de ácidos grasos, éteres, amidas, sales, etc...

Por aditivo alimentario funcional debe entenderse aquel que al ingerirse produce un efecto de prevención de desarrollo de enfermedades, más allá del inherente al propio aporte nutricional.

La regulación de la actividad de proteínas G regula la presión arterial

El ácido hidroxioléico y los compuestos análogos al mismo son capaces de modular la actividad de las proteínas G, medida por la unión de $[\text{}^{35}\text{S}]\text{GTP}\gamma\text{S}$ (Figura 2).

Existe una relación entre los compuestos de la invención y la actividad de proteínas G y la presión arterial. Un dato que confirma lo expuesto antes es un estudio realizado en humanos y en el que el inventor demuestra que los individuos hipertensos tienen alteraciones en los niveles de lípidos de membrana (Tabla 1). Los lípidos de membrana influyen sobre la transición lamelar-hexagonal, que a su vez determina la localización y funcionalidad de proteínas G. De hecho, en hipertensos se observa una alteración en los niveles de proteínas G asociadas a la membrana que se debe a la mencionada alteración de los lípidos de membrana y de la facilidad para formar fases hexagonales. Si la modulación de las estructuras no lamelares de membrana y la consiguiente relocalización de las proteínas G produce hipertensión, a través de la regulación de la transición lamelar-hexagonal de los lípidos de membrana se puede conseguir la regulación de la localización de las proteínas de membrana y, finalmente, de la presión arterial (Figura 3).

ES 2 229 935 B1

TABLA 1

Composición de ácidos grasos de fosfolípidos y ésteres de colesterol en membranas de eritrocitos de sujetos normotensos (control) e hipertensos (mg/100 mg)

Ácido Graso	Fosfolípidos		Ésteres	Colesterol
	Hiperten- sos	Controles	Hiper- tensos	Controles
C14:0	0.4 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.9 ± 0.3	1.0 ± 0.2
C14:1n-5	1.7 ± 0.2	2.2 ± 0.3 **	0.7 ± 0.2	n.d.***
C16:0	23.7 ± 0.6	23.1 ± 0.5	5.1 ± 0.6	14.3 ± 0.5 *
C16:1n-9	0.4 ± 0.0	0.3 ± 0.0	3.1 ± 0.6	2.5 ± 0.3 **
C16:1n-7	0.5 ± 0.0	0.5 ± 0.1	2.4 ± 0.4	1.7 ± 0.1 ***
C16:4n-3	2.6 ± 0.3	2.5 ± 0.5	n.d.	n.d.
C18:0	16.6 ± 0.3	17.1 ± 0.6	3.2 ± 0.5	2.9 ± 0.5
C18:1n-9t	0.9 ± 0.1	0.6 ± 0.0 ***	n.d.	n.d.
C18:1n-9	16.3 ± 0.6	16.0 ± 0.8	18.4 ± 1.2	16.7 ± 0.6 **
C18:1n-7	1.8 ± 0.1	2.0 ± 0.2 **	1.5 ± 0.1	1.7 ± 0.2 **
C18:2 n-6	12.5 ± 0.7	13.4 ± 0.7*	45.8 ± 2.8	51.1 ± 1.6 ***
C18:3n-6	0.4 ± 0.0	n.d.***	0.9 ± 0.2	0.8 ± 0.1 **
C18:3n-3	0.3 ± 0.0	0.4 ± 0.1	n.d.	n.d.
C20:2n-6	2.1 ± 0.1	2.1 ± 0.2	0.9 ± 0.1	0.9 ± 0.1
C20:4n-6	17.0 ± 0.4	16.5 ± 0.4	7.0 ± 0.6	6.4 ± 0.9 *
C22:4n-6	0.7 ± 0.3	0.6 ± 0.1	n.d.	n.d.
C22:6n-3	0.7 ± 0.1	0.8 ± 0.2	n.d.	n.d.
C24:1n-9	1.5 ± 0.1	1.6 ± 0.1	n.d.	n.d.
Total SFA	41.2 ± 1.1	41.1 ± 0.7	19.3 ± 1.2	18.2 ± 1.1 *
Total MUFA	22.6 ± 0.6	21.7 ± 0.7 *	25.9 ± 1.6	22.7 ± 0.8 ***
Total PUFA	36.2 ± 1.2	38.2 ± 0.9 **	54.8 ± 2.4	59.1 ± 1.6 ***
PUFA:SFA	0.8 ± 0.04	0.9 ± 0.03	2.7 ± 0.3	3.4 ± 0.3 ***
PUFA:MUFA	1.6 ± 0.1	1.7 ± 0.1	2.2 ± 0.2	2.6 ± 0.2 ***

Los valores son medias ± error standard de la media (n=28).

SFA, ácidos grasos saturados; MUFA, ácidos grasos monoinsaturados; PUFA, ácidos grasos poliinsaturados.

*P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001. n.d.: no detectado.

Se ha podido comprobar que el ácido 2-hidroxioléico y sus análogos tienen un marcado efecto hipotensor, ya que inducen reducciones de la presión arterial, sin modificar el ritmo cardíaco (Figura 4 a y b y Figura 5). El efecto hipotensor producido por ingesta de ácido 2-hidroxioléico y sus análogos resulta en una reducción de la presión arterial desde las 2 horas de la ingestión y se mantiene durante días y semanas mientras se mantenga la ingesta de este

compuesto. El ácido aminoleico, por ejemplo, reduce la presión arterial en 15 mm Hg en tratamientos crónicos de una semana.

La presión arterial está controlada por varios sistemas de receptores acoplados a proteínas G, tales como receptores de vasopresina, adrenérgicos, etc.

La interacción entre las hormonas involucradas en el control de la presión arterial con los receptores asociados a proteínas G estimuladoras es modulada por la acción de los ácidos grasos tipo el ácido 2-hidroxioléico y moléculas análogamente funcionales.

Dichos ácidos grasos regulan la comunicación entre receptor, proteína G y efector. El resultado es una modulación de las señales de AMP cíclico, fosfolipasa C y óxido nítrico, que da lugar a una reducción en la presión arterial. Dicho efecto está también relacionado con la regulación de la estructura de membrana. Una ventaja adicional de estos compuestos es que controlan otros dos factores de riesgo cardiovascular: el perfil lipídico/lipoproteico sérico y el peso corporal. Dado que el control único de la presión arterial no basta para alargar la vida de personas hipertensas, es necesario controlar otros factores de riesgo cardiovascular. Por ello, estos ácidos grasos son unos complementos dietéticos inmejorables para prevenir el desarrollo de patologías cardiovasculares.

Ensayos hipotensores

El ácido 2-hidroxioléico indujo reducciones significativas en la presión arterial en ratas (Figura 4a). Estas bajadas se produjeron tanto de forma rápida (a las 2 horas después de la ingesta, 19 ± 6 mm Hg, $P < 0,01$, $n = 6$) como a largo plazo (1 semana, 26 ± 7 mm Hg, $P < 0,001$, $n = 6$). En ratas genéticamente hipertensas, cepa SHR, la ingesta de ácido 2-hidroxioléico (600 mg/kg cada 12 horas) produjo reducciones muy marcadas en la presión arterial. Estas reducciones, de unos 70 mmHg, han inducido una normalización de la presión sistólica de ratas hipertensas SHR. Por el contrario, todos los controles empleados (ratas WKY con y sin dieta y ratas SHR sin dieta) no cambiaron su presión arterial durante el período de tratamiento (Figura 6).

En humanos el ácido 2-hidroxioléico también produjo disminuciones importantes y significativas de la presión arterial, véase Figura 4b.

Asimismo, los análogos funcionales del ácido 2-hidroxioléico que cumplen con la fórmula general indicada arriba tuvieron un efecto hipotensor (Figura 5). En todos los casos, las disminuciones de presión arterial fueron significativas en comparación con los controles (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$).

Estos datos indican claramente que el ácido 2-hidroxioléico y sus análogos funcionales pueden utilizarse como aditivos alimentarios que inducen mejoras de la hipertensión arterial.

Además de la actividad hipotensora del ácido 2-hidroxioléico y análogos funcionales, tienen efectos beneficiosos sobre los parámetros cardiovasculares a través de la reducción del peso corporal (Figura 5).

El peso corporal está regulado, entre otros, por factores como la capacidad metabólica del individuo y el control de la ingesta.

El control de la ingesta viene determinado por la sensación de saciedad, la cual a su vez se regula a nivel hormonal. Así por ejemplo, la deficiencia de nutrientes estimula la secreción de hormonas que dan lugar a una sensación de apetito. Después de la ingesta, una vez repuestos los nutrientes, se estimula la secreción de hormonas que dan lugar a una sensación de saciedad.

Se ha encontrado que los ácidos grasos tipo el ácido 2-hidroxioléico y sus análogos funcionales producen efectos de saciedad, induciendo reducciones en la ingesta de alimentos. Este control también está mediado por receptores de citoquinas, leptinas, adrenoreceptores, y otros receptores acoplados a proteínas G, cuya actividad es modulada por estos ácidos grasos. Estos resultados están en línea con los efectos producidos por la dieta mediterránea (rica en ácidos grasos monoinsaturados, como el hidroxioléico y derivados) sobre el peso corporal. En este sentido, es conocido que la obesidad tiene una menor implementación en países del ámbito mediterráneo que en países nórdicos.

Debido al control que el ácido hidroxioléico y derivados ejercen sobre la ingesta, los animales que reciben suplementos nutricionales de hidroxioléico y derivados redujeron su peso, a pesar de tener acceso libre a comida y agua. Este efecto sobre la saciedad supuso un consumo de pienso entre un 15% y un 30% menor que los animales controles.

Ensayos de control del peso corporal

Ratas que reciben un suplemento nutricional con las moléculas de la invención disminuyeron su peso corporal durante períodos de ingesta de 5 a 17 días. En estos experimentos, las ratas recibían el ácido 2-hidroxioléico o sus análogos funcionales, en particular el ácido aminoleico, y tenían acceso libre a comida y agua, de forma similar al grupo de ratas control, que recibían la misma dieta sin aporte adicional de ácidos grasos (Figura 7). En estas condiciones, las ratas que recibían el suplemento experimentaron una disminución del peso corporal progresiva a partir del primer día, hasta 17 gramos en el séptimo día (5% del peso corporal normal de una rata de Sprague-Dowley

de 2-3 meses de edad). El pienso suministrado a estos animales se pesó y se pudo observar un menor consumo durante el tiempo que duró la dieta, lo que confirma que los tratamientos con las moléculas relativas a esta invención producen un efecto de saciedad en el animal. Experimentos similares realizados en ratones adultos, durante períodos de hasta 28 días con ácido 2-hidroxioleico, demuestran reducciones en el peso corporal de un 15% a un 25%, respecto a ratones control (sin suplemento nutritivo).

En otra serie experimental, se suplementó la dieta de ratas normotensas (WKY) e hipertensas (SHR) con ácido hidroxioleico (600 mg/kg, cada 12 horas) y se pudo comprobar que el peso de los animales descendía entre 30 y 40 gramos (un 15-20% del peso corporal) en un período de dieta de 8 días (Figura 8).

Descripción de las figuras

Figura 1: Algunas de las muchas estructuras, además de la lamelar, que pueden adoptar las membranas. A) Formas de disposición de las moléculas lipídicas; B) Organizaciones moleculares: (L) lamelar con predominio de la fosfatidilcolina; (H_I) (H_{II}) hexagonales con predominio, respectivamente de la lisofosfatidilcolina y de la fosfatidiletanolamina.

La Figura 2 muestra la fijación de [³⁵S] GTPγS a membranas de células NIH 3T3 transfectadas con el adrenoreceptor α_{2A/D} de rata. Este parámetro mide la actividad de proteínas G. La presencia de 2-hidroxioleico (2OHOA) induce una disminución de la función de las proteínas G aun mayor que la daunomicina (DNM).

Abcisas: C = control; 2OHOA = 2 hidroxioleico; DNM = dannomicina.

Ordenadas: Fijación de [³⁵S]GTPγS (% sobre el control).

Figura 3: Niveles de proteínas G en membranas de eritrocitos medidos como % sobre el control de sujetos normotensos (barras vacías) e hipertensos (barras rellenas). Los niveles de proteínas Gα_{i1/2}(Gi), Gα_o(Go), Gα_s(Gs) y Gβ (Gb) son significativamente inferiores en hipertensos. Los valores de las barras son medias ± error estándar de la media *P<0.05, **P<0.01.

La Figura 4a muestra el efecto agudo (30 mg/kg, 2 horas, barras negras) y crónico (90 mg/kg al día, durante 7 días, barras blancas) del ácido hidroxioleico (2OHOA) sobre la presión arterial sistólica (mm Hg) en ratas hembra Sprague-Dowley. *P<0.01, con respecto al control (C).

La figura 4b muestra el efecto del ácido 2-hidroxioleico (90 mg/kg diarios, durante 8 días) sobre la presión arterial (mm Hg) en humanos. Esta gráfica representa la presión arterial sistólica en función del día de tratamiento. Los días anteriores al tratamiento se indican con valores negativos. *P<0.05, **P<0.01.

La Figura 5 muestra el efecto de la administración a corto plazo (2 a 4 horas) de ácido 2-hidroxioleico (2OHOA) y sus análogos funcionales 2-metil-oleico (2MOA), oleico (CA), palmitoleico (POA), cis vaccénico (VA) y nervónico (NA). Todos los tratamientos realizados con el ácido 2-hidroxioleico y los análogos mencionados indujeron disminuciones significativas (*P<0.05, **P<0.001) de la presión arterial sistólica (mmHg) en ratas hembra Sprague Dowley, con respecto al control (C).

La Figura 6 muestra el efecto del ácido 2-hidroxioleico sobre la presión arterial sistólica (mm Hg) en ratas macho genéticamente hipertensas de la cepa SHR; (SHR 2OHOA cuadrados negros). El consumo de ácido 2-hidroxioleico (600 mg/kg, cada 12 horas durante 7 días) indujo reducciones importantes y significativas de la presión arterial sistólica. En ratas SHR sin suministro de ácido 2-hidroxioleico (SHR cuadrados vacíos), no se observó reducción de la presión arterial. En machos de la cepa WKY (normotensos) ni el ácido 2-hidroxioleico (círculos negros) ni el vehículo (círculos vacíos) produjeron cambios estadísticamente significativos en la presión arterial. La reducción que indujo el hidroxioleico sobre la presión arterial hizo que los valores registrados al final del período de dieta entre ratas hipertensas y normotensas no fueran significativamente diferentes.

La Figura 7 muestra el efecto del ácido 2-hidroxioleico (2OHOA) y de sus análogos, los ácidos oleico (OA) y palmitoleico (POA), (90 mg/kg diarios) sobre el peso corporal medido en disminución en gr por día de tratamiento. Los animales (ratas Sprague-Dowley) tenían acceso libre a comida y agua en todo momento.

La Figura 8 muestra el efecto del ácido hidroxioleico (recuadros y círculos negros) (600 mg/kg, cada 12 horas durante 7 días) sobre el peso corporal de ratas hipertensas (SHR) y normotensas (WKY). Tras ocho días de ingestión de hidroxioleico, ambas cepas mostraron reducciones importantes en el peso corporal (15-20% de reducción) en tanto que los animales control (recuadros y círculos en blanco) tratados con vehículo (sin 2OHOA) no sufrieron modificaciones importantes en el peso corporal.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Uso de compuestos de fórmula general I: $\text{COOH-CHR-(CH}_2\text{)}_m\text{-CH=CH-(CH}_2\text{)}_n\text{-CH}_3$, donde R puede ser cualquier grupo de peso molecular inferior a 200 Da, m y n tienen independientemente un valor comprendido entre 0-15, en la fabricación de aditivos y/o ingredientes alimentarios, productos dietéticos, formas alimentarias aceptables y alimentos en general cuya ingesta previene el desarrollo de patologías vasculares y obesidad.
- 10 2. Uso según la reivindicación 1, **caracterizado** porque R es preferentemente H, OH, NH_2 o CH_3 .
- 10 3. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2, **caracterizado** porque los compuestos de fórmula general I, tienen preferentemente entre 12 y 28 átomos de carbono.
- 15 4. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, **caracterizado** porque los compuestos de fórmula general I son preferentemente el ácido 2-hidroxioléico, el ácido 2-metiloléico, el ácido vaccénico, el ácido nervónico, el ácido oleico, el ácido palmitoléico o el ácido aminoléico.
- 20 5. Uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores en que la ingesta de aditivos y/o ingredientes alimentarios, productos dietéticos, formas alimentarias aceptables y alimentos en general ayuda al control de la presión arterial.
- 20 6. Uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores en que la ingesta de aditivos y/o ingredientes alimentarios, productos dietéticos, formas alimentarias aceptables y alimentos en general ayuda al control del peso corporal.

25

30

35

40

45

50

55

60

65

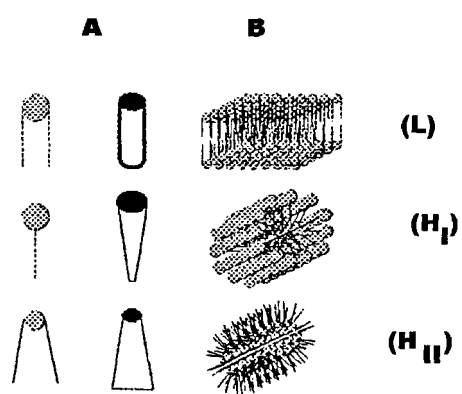


FIG. 1

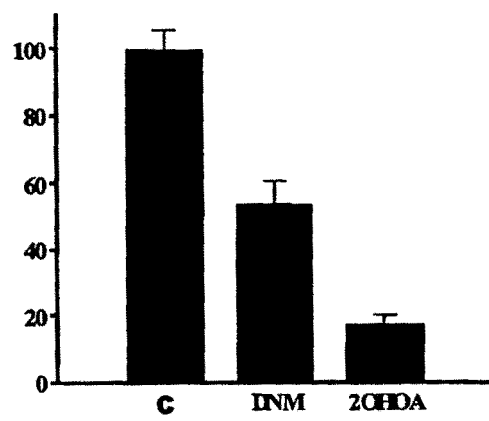


FIG. 2

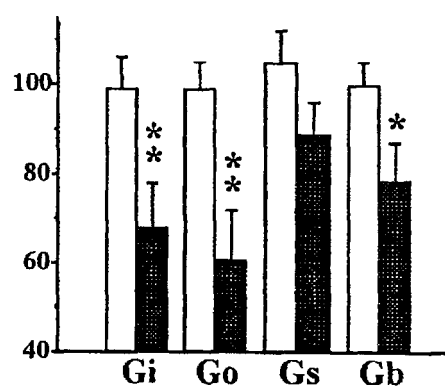


FIG. 3

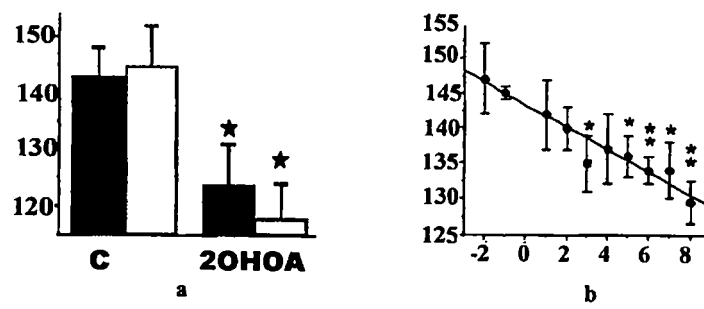


FIG. 4

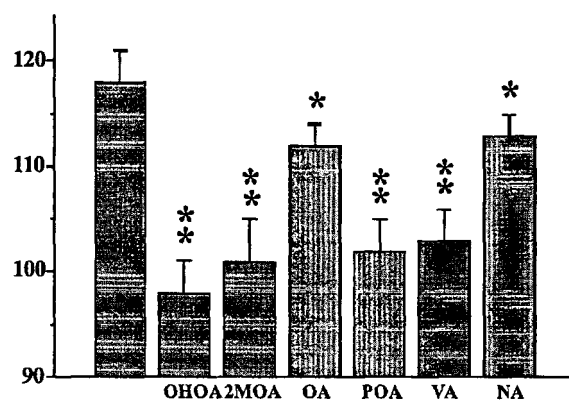


FIG. 5

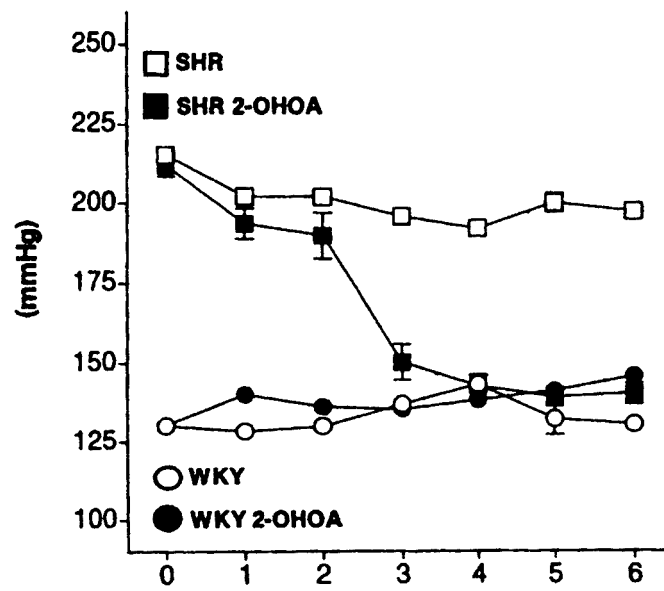


FIG. 6

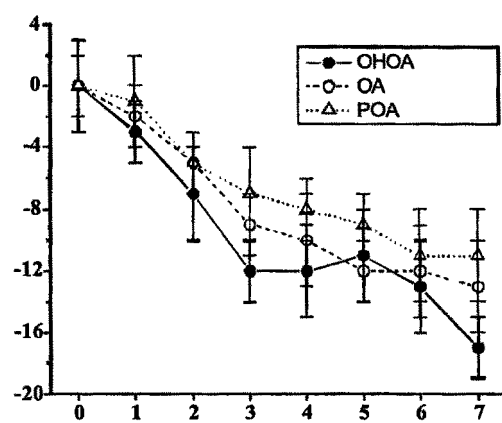


FIG. 7

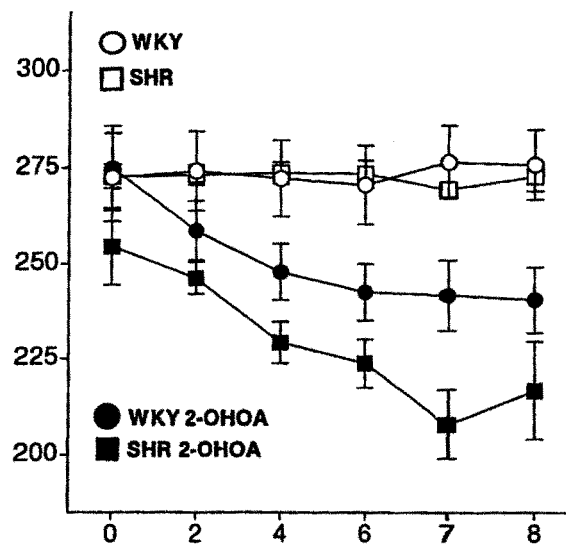


FIG. 8



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

⑪ ES 2 229 935

⑫ Nº de solicitud: 200302364

⑬ Fecha de presentación de la solicitud: 10.10.2003

⑭ Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑮ Int. Cl.7: A23L 1/29, A61K 31/20, A61P 9/00, 3/04

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	WO 03030891 A1 (UNIVERSITAT DE LES ILLES BALEARS) reivindicaciones.	1-6
X	WO 03056939 A1 (PULEVA BIOTECH, S.A.) 17.07.2003, todo el documento.	1-5
X	WO 0200042 A2 (THE PROCTER & GAMBLE COMPANY) 03.01.2002, todo el documento.	1-4,6
X	GB 2140688 A (OTSUKA PHARMACEUTICAL CO. LTD.) 05.12.1984, reivindicaciones.	1-5
A	WO 9631457 A1 (SCOTIA HOLDINGS PLC.) 10.10.1996	

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

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

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

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

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

El presente informe ha sido realizado

☒ para todas las reivindicaciones

☐ para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe

03.03.2005

Examinador

A. Maquedano Herrero

Página

1/1