



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



⑪ Número de publicación: **2 342 997**

⑫ Número de solicitud: 200803480

⑬ Int. Cl.:

A61K 31/201 (2006.01)	A23L 1/30 (2006.01)
A61K 31/185 (2006.01)	A61P 3/00 (2006.01)
A61P 3/04 (2006.01)	A61P 9/10 (2006.01)
A61P 9/12 (2006.01)	A61P 17/00 (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)	A61P 29/00 (2006.01)
A61P 31/00 (2006.01)	A61P 35/00 (2006.01)
A61Q 19/00 (2006.01)	

⑭

PATENTE DE INVENCION

B1

⑮ Fecha de presentación: **09.12.2008**

⑯ Fecha de publicación de la solicitud: **20.07.2010**

Fecha de la concesión: **25.05.2011**

⑰ Fecha de anuncio de la concesión: **06.06.2011**

⑱ Fecha de publicación del folleto de la patente:
06.06.2011

⑲ Titular/es: **Universitat de les Illes Balears**
Ctra. de Valldemossa, Km. 7,5
07122 Palma de Mallorca, Illes Balears, ES

⑳ Inventor/es: **Horvath, Ibolya;**
Terés Jiménez, Silvia;
Barceló Coblijn, Gwendolyn;
Vigh, Laszlo;
Barceló Estarellas, Juana;
Álvarez Martínez, Rafael;
Escriba Ruiz, Pablo Vicente;
Lladó Cañellas, Victoria;
Busquets Xaubet, Xavier;
Torok, Zsolt y
Balogh, Gabor

㉑ Agente: **Illescas Taboada, Manuel**

㉒ Título: **α -derivados de ácidos grasos *cis*-monoinsaturados para ser usados como medicamento.**

㉓ Resumen:

α -derivados de ácidos grasos *cis*-monoinsaturados para ser usados como medicamento. La presente invención se refiere a compuestos de Fórmula I: *cis*-COOH-XCH-(CH₂)_a-CH=CH-(CH₂)_b-CH₃ donde (a) y (b) pueden tener cualquier valor entre 0 y 14 y (X) puede ser cualquier átomo o grupo de átomos con un peso entre 4 y 200 Da; para ser usados como medicamento, particularmente en la prevención y/o tratamiento de enfermedades cuya etiología común se basa en alteraciones estructurales y/o funcionales de los lípidos localizados en la membrana celular; exceptuando el uso de los compuestos de Fórmula I donde (X) se sustituye por OH, NH₂ o CH₃ para la prevención y tratamiento de enfermedades cardiovasculares y obesidad, o para el tratamiento del cáncer.

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

DESCRIPCIÓN

α -derivados de ácidos grasos *cis*-monoinsaturados para ser usados como medicamento.

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a α -derivados de ácidos grasos *cis*-monoinsaturados de Fórmula I (ver la breve descripción de la invención) para ser usados como medicamento, preferentemente en la prevención y/o tratamiento de enfermedades cuya etiología común está basada en alteraciones (de cualquier origen) de los lípidos de la membrana celular como, por ejemplo, alteraciones en el nivel, en la composición o en la estructura de dichos lípidos. Asimismo, para patologías en las que la regulación de la composición y estructura lipídica de membrana induzca la reversión del estado patológico. Además, en la presente invención se exceptúa el uso de los compuestos de Fórmula I donde (X) se sustituye por OH, NH₂ o CH₃ para la prevención y tratamiento de enfermedades cardiovasculares y obesidad, o para el tratamiento del cáncer.

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.

20 **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, patologías cardiovasculares, procesos neurodegenerativos, obesidad, desórdenes metabólicos, inflamación, enfermedades infecciosas y enfermedades autoinmunes, se han relacionado con alteraciones en los niveles o en la composición de los lípidos presentes en las membranas biológicas, evidenciándose, además, los efectos beneficiosos que presentan los tratamientos con otros ácidos grasos distintos a los de la presente invención y que regulan la composición y estructura de los lípidos de membrana, pudiendo ser empleados para revertir dichas enfermedades (Escribá, 2006).

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

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

Dada la sabida relación existente entre las alteraciones tanto estructurales como funcionales de los lípidos localizados en la membrana celular con el desencadenamiento de varias enfermedades de diversa tipología, pero unitariamente relacionadas por dicha etiología, la presente invención se focaliza en α -derivados de ácidos grasos *cis*-monoinsaturados los cuales son usados en el tratamiento y/o prevención de dichas enfermedades. Sorprendentemente, en la presente invención se evidencia cómo los α -derivados de ácidos grasos *cis*-monoinsaturados pueden ser usados con éxito para regular la señalización celular, previniendo la aparición o dando lugar a la reversión de importantes enfermedades.

Los documentos de patente WO2005041691 y WO2003030891 se refieren a la prevención y tratamiento de enfermedades cardiovasculares y obesidad, y al tratamiento del cáncer mediante el uso del ácido hidroxioleico y ciertos análogos con un radical R en el carbono 2 y con configuraciones *cis* o *trans* donde el grupo R puede sustituirse por H, OH, NH₂ y CH₃ u otros grupos con un peso menor a 200 Da. En cambio, en la presente invención, se ha demostrado la eficacia superior de los isómeros con configuración *cis* y se ha llevado a cabo una selección de nuevos grupos seleccionados entre: alcoholes, ácidos orgánicos, grupos alquilo, grupos amino, halógenos, halógenos de alquilo, grupos alquiloxy y grupos mercapto, preferentemente seleccionados entre F, F₃C, O-CH₃ y HS destinados a

ser unidos al carbono α , los cuales sorprendentemente fueron usados con éxito en la prevención y/o tratamiento de enfermedades cuya etiología común se basa en alteraciones estructurales y/o funcionales de los lípidos localizados en la membrana celular como: cáncer, patologías vasculares, patologías cutáneas, patologías metabólicas, patologías neurodegenerativas, procesos inflamatorios, VIH o malaria. Además, en la presente invención se han evidenciado nuevos usos para los compuestos divulgados en los documentos de patente WO2005041691 y WO2003030891 como son: la prevención de varios tipos de cáncer (ver Tabla 2) y la prevención y tratamiento de patologías cutáneas, patologías neurodegenerativas, procesos inflamatorios o patologías infecciosas.

Así, ninguno de los documentos localizados en el estado de la técnica se refiere al uso concreto de α -derivados de ácidos grasos *cis*-monoinsaturados para los propósitos reivindicados en la presente invención. Además, en la presente invención se evidencia la particular importancia de seleccionar compuestos con las exclusivas características estructurales compartidas por los α -derivados de ácidos grasos *cis*-monoinsaturados (doble enlace en posición *cis* y sustituciones concretas en el carbono α) para que éstos puedan aplicarse eficazmente en el tratamiento de enfermedades cuya etiología se relacione con alteraciones estructurales y/o funcionales de los lípidos de membrana. Así en la presente invención se exponen ejemplos comparativos donde se demuestra cómo otros compuestos similares a los utilizados en la presente invención pero sin compartir dichas características estructurales no son tan eficaces como los α -derivados de ácidos grasos *cis*-monoinsaturados.

Descripción de la invención

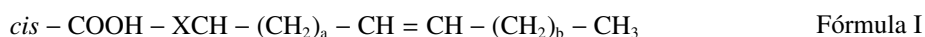
Breve descripción de la invención

La presente invención se refiere a α -derivados de ácidos grasos *cis*-monoinsaturados los cuales son usados como medicamento, preferentemente en el tratamiento y/o prevención de enfermedades aunadas por su etiología: alteraciones estructurales o funcionales de los lípidos de membrana; exceptuando el uso de los compuestos de Fórmula I donde (X) se sustituye por OH, NH₂ o CH₃ para la prevención y tratamiento de enfermedades cardiovasculares y obesidad, o para el tratamiento del cáncer.

Dichas enfermedades prevenidas o tratadas mediante el uso de α -derivados de ácidos grasos *cis*-monoinsaturados son, por ejemplo:

- El cáncer (ver la Tabla 2): cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer de páncreas, leucemia cáncer de cérvix, cáncer de colon, cáncer de cerebro, cáncer de pulmón.
- Patologías vasculares: arterioesclerosis, cardiomiopatías, angiogénesis, hiperplasia cardiaca o hipertensión.
- Patologías cutáneas: celulitis, vitíligo o soriasis.
- Patologías metabólicas: hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia, diabetes u obesidad.
- Patologías neurodegenerativas: enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson o esclerosis.
- Procesos inflamatorios: desencadenan enfermedades cardiovasculares, enfermedades sistémicas, envejecimiento, enfermedades respiratorias o artritis reumatoide.
- Patologías infecciosas: SIDA y malaria

Los α -derivados de ácidos grasos *cis*-monoinsaturados utilizados en la presente invención con dicho propósito (en adelante ácidos grasos de la invención) pertenecen al grupo estructural 1 mostrado en la Tabla 1 y se caracterizan por la siguiente Fórmula general (I):



donde (X) unido al carbono α puede ser cualquier radical de peso molecular comprendido entre 4 y 200 Da seleccionados entre: alcoholes, ácidos orgánicos, grupos alquilo, grupos amino, halógenos, halógenos de alquilo, grupos alquilo y grupos mercapto, preferentemente: OH, NH₂, CH₃, F, F₃C, O-CH₃ y HS. Por otro lado, (a) y (b) pueden tener de forma independiente cualquier valor comprendido entre 0 y 14.

Para el correcto funcionamiento de esta estructura, son indispensables tanto que el doble enlace (=) esté en posición *cis* como dichas sustituciones en el carbono α .

Ensayos realizados con moléculas análogas a las descritas en la Fórmula I que carecen de sustituciones en el carbono α (X es un átomo de hidrógeno), que tienen el doble enlace en configuración *trans*, o que carecen de doble enlace (ácidos grasos saturados), demostraron la falta de actividad preventiva o curativa de dichos análogos respecto a la mostrada por los ácidos grasos de la invención.

La administración de los ácidos grasos de la invención puede llevarse a cabo por cualquier vía como, por ejemplo, vía enteral (mediante el aparato digestivo), vía oral (mediante píldoras, comprimidos o jarabes), vía rectal (mediante supositorios o enemas), vía tópica (mediante cremas o parches), vía inhalatoria, vía parenteral inyectada, vía inyección intravenosa, vía inyección intramuscular o vía inyección subcutánea, en la forma arriba indicada o en cualquier tipo de forma farmacéuticamente aceptable, como por ejemplo: metilos, etilos, fosfatos, otros radicales de tipo éster, éter, alquilo, etc.

Por otro lado los ácidos grasos de la invención pueden administrarse de forma independiente o formulados en composiciones farmacéuticas o nutraceuticas donde se combinan con excipientes como por ejemplo: ligantes, rellenos, desintegradores, lubricantes, recubridores, edulcorantes, saborizantes, colorantes, transportadores, etc. y combinaciones de los mismos. Asimismo, los ácidos grasos de la invención pueden formar parte de composiciones farmacéuticas o nutraceuticas, en combinación con otros principios activos. A efectos de la presente invención se define el término nutraceutico como un compuesto que se ingiere de forma periódica durante la alimentación y que sirve para prevenir enfermedades, en este caso, cuya etiología está unida a alteraciones de los lípidos de la membrana celular.

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

Descripción de las figuras

Figura 1. Unión de proteínas de señalización celular a membranas celulares. Las proteínas periféricas de señalización (A, B y C) se unen a membranas a través de uno o varios mecanismos, como la interacción específica con lípidos de membrana, las interacciones electrostáticas y la inserción de regiones hidrofóbicas en zonas de alta propensión no lamelar, mediada por lípidos *cis*-monoinsaturados. Por ello, los α -derivados de ácidos grasos *cis*-monoinsaturados pueden regular la interacción de ciertas proteínas de membrana y la señalización celular.

Figura 2. Efecto preventivo de diferentes ácidos grasos frente al desarrollo de tumores. En el eje de abscisas se muestra el tipo de ácido graso utilizado para la prevención del desarrollo del cáncer y en el eje de ordenadas el volumen del tumor. Los animales se trataron de forma previa a la inyección de células tumorales y posteriormente se mantuvo el tratamiento. Los animales del grupo control no se trataron, y el volumen de sus tumores se tomó como valor de referencia (100%). Se observa como los ácidos grasos de la invención (OHHD, OHOD, MOD, AOD, FOD, TFMOD, MOOD, SHOD, MOD11, OHOD11, OHEE y OHDE) tienen un efecto más marcado ($P < 0,05$ en todos los casos) que los ácidos grasos *cis*-monoinsaturados sin derivatizar en posición α (EE, DE, HOD, ODO), que los ácidos grasos saturados de idéntica longitud (HD, OD, EO), y que los α -derivados de ácidos grasos cuando no son *cis*-monoinsaturados (OHS, tOHOD) (ver Tabla 1).

Figura 3

A. Células de cáncer (A549) se trataron con diferentes concentraciones de OHOD y MOD11 para determinar si el efecto era dependiente de la concentración. En el eje de abscisas se muestra la concentración μM de los ácidos grasos utilizados y en el eje de ordenadas se muestra la viabilidad de las células A549 (% control) sin tratar. Se trataron dichas células con diferentes concentraciones (0-400 μM) de OHOD y MOD11 y se determinó el número de células a través de citometría de flujo. Ambos compuestos redujeron el crecimiento de células tumorales, mostrando valores de IC_{50} (concentración que reduce al 50% el número de células viables) en el rango de 50 a 100 μM , tras 48 horas de incubación. Dosis de 200 a 400 μM produjeron en todos los casos la eliminación total de células tumorales.

B. Células de cáncer (A549) se trataron con los compuestos indicados en el eje de abscisas durante 48 horas a 150 μM . Posteriormente, se contaron las células y se expresó en el eje de ordenadas su número como tanto por ciento de las contadas en placas sin tratamiento (control). En estos cultivos, la incubación con 150 μM de los ácidos grasos de la invención produjo una inhibición del crecimiento de células tumorales ($P < 0,05$ en todos los casos), lo que indica que son moléculas adecuadas para el tratamiento de cáncer.

Figura 4. Células de cáncer (A549) se incubaron en ausencia (izquierda) o presencia (derecha) de OHOD (100 μM , 48 h). Posteriormente, se fijaron, se incubaron en presencia de un anticuerpo contra cadherina y se observaron por microscopía confocal. Los tratamientos con 50 μM de OHOD (48 h) indujeron un aumento del $73,6 \pm 5,4\%$ en los niveles de esta proteína. En tratamientos con los ácidos grasos de la invención se observó un aumento significativo de los niveles de cadherina.

Figura 5. Capacidad invasiva de células de cáncer de pulmón (A549) en cultivo, en ausencia (control, C) o presencia de OHOD (ácido 2-hidroxi-9-*cis*-octadecenoico) a 50 y 100 μM y a diferentes tiempos. Las células de cáncer de pulmón cultivadas en presencia de OHOD tienen una capacidad invasiva inferior a la que presentan las células no tratadas ($P < 0,05$). Estos resultados indican que los ácidos grasos de la invención pueden ser empleados para prevenir o tratar el desarrollo de metástasis tumorales.

En la gráfica de la derecha se representan dichos resultados mostrando el número de células invasivas en el eje de ordenadas y, en el eje de abscisas, el tiempo en horas.

Figura 6. Efecto de diferentes moléculas sobre la proliferación de células A10 de aorta tras incubaciones de 48 horas a una concentración de 200 μ M. En el eje de abscisas se representan los ácidos grasos utilizados y en el eje de ordenadas el número de células (% control). Todas las células crecieron en idénticas condiciones de temperatura, pH y medio de cultivo, excepto uno de los frascos, al que se retiró el suero (sin suero). Los ácidos grasos de la invención indujeron una detención de la proliferación celular similar a la que produce la retirada de suero fetal bovino (que contiene múltiples factores de crecimiento celular) a una concentración de 200 μ M ($P < 0,05$ en todos los casos). Este resultado indica que detienen la proliferación de células cardiovasculares, sin tener un efecto tóxico (el número de células es igual o superior a la muestra sin suero).

Figura 7. Efecto de diferentes ácidos grasos en la prevención de desarrollo de hipertensión en ratas SHR. En el eje de abscisas se muestran los ácidos grasos utilizados y en el eje de ordenadas la presión arterial (Hg). Se observa que los animales tratados con los ácidos grasos de la invención no desarrollaron hipertensión ($P < 0,05$ en todos los casos), mientras que los no tratados o tratados con ácidos grasos que no se ajustan a la estructura mostrada en la Fórmula I, sí que desarrollaron hipertensión.

Figura 8. Efecto del OHOD sobre la contractibilidad inducida por noradrenalina (NA) en aorta de ratas SHR. En el eje de abscisas se muestra el logaritmo de NA y en el eje de ordenadas la concentración (g). Las aortas fueron tratadas con OHOD (círculos rellenos) o vehículo (círculos vacíos) durante 60 minutos en baño de órganos a 37°C en medio Ringer con oxígeno. Como muestra la figura, la capacidad de contracción inducida por noradrenalina (NA) es mucho mayor en aorta de ratas pretratadas con este ácido graso ($P < 0,05$). Este resultado indica claramente que la flexibilidad del tejido vascular aumenta de forma significativa ($P < 0,05$) en presencia de los ácidos grasos de la invención.

Figura 9. Efecto de los ácidos grasos de la invención (mostrados en el eje de abscisas) sobre la producción de melanina en melanocitos de ratón (células B16, barra izquierda más clara) y sobre la proliferación de adipocitos (células 3T3-L1, barra derecha más oscura). Los resultados corresponden a valores de la media de tres experimentos independientes. En este sentido, concentraciones de 100 μ M de estos compuestos durante 48 horas producen reducciones en el contenido en melanina en células B16 ($P < 0,05$ en todos los casos). Además las moléculas que tienen la estructura delimitada por la Fórmula I inhiben el crecimiento de las células 3T3-L1 (adipositos, $P < 0,05$ en todos los casos), mientras que las moléculas que no tienen la estructura descrita en dicha Fórmula I no tienen efectos significativos sobre la proliferación de los adipocitos.

Figura 10. En las cuatro barras se muestra de izquierda a derecha respectivamente el efecto de tratamientos con vehículo (control), con OHOD a 200 mg/kg, con OHOD a 400 mg/kg y con OHOD a 600 mg/kg sobre los niveles de colesterol (grupo de cuatro barras de la izquierda), triglicéridos (grupo de cuatro barras del medio) y glucosa (grupo de cuatro barras de la derecha). Los tratamientos fueron orales en todos los casos y se prolongaron durante 30 días. Los valores indicados corresponden a medias de los valores obtenidos en 6 animales por grupo. Como puede observarse el tratamiento con OHOD produjo reducciones importantes de los niveles de colesterol, triglicéridos y glucosa ($P < 0,05$ en todos los casos).

Figura 11. Efecto del tratamiento con vehículo (control) o con los ácidos grasos de la invención (600 mg/kg), sobre los niveles de colesterol, triglicéridos y glucosa. Los valores indicados son medias de los valores obtenidos en 6 animales. Cada grupo de tres barras representa el tratamiento con un ácido graso diferente correspondiendo la barra de la izquierda al colesterol, la del medio a triglicéridos y la de la derecha a glucosa. Como puede observarse, los ácidos grasos que se ajustan a la Fórmula I producen reducciones significativas en estos tres parámetros ($P < 0,05$), mientras que aquellas moléculas análogas que no se ajustan a la Fórmula I carecen de efectos para el tratamiento eficaz de hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia y diabetes.

Figura 12. Índice cognitivo en ratones ApoB-100. Las barras corresponden a valores de índice cognitivo, determinado como la media entre los resultados obtenidos en el test de Miller y el laberinto radial. En el test de Miller, se consideró 100% el valor tiempo de encuentro de la plataforma tras aprendizaje dividido por el tiempo de encuentro tras cambio de ubicación en animales no tratados. En el laberinto radial, se consideró el número de intentos promedio hasta encontrar el laberinto con estímulo. En el eje de abscisas se representan los ácidos grasos utilizados. Cada grupo de animales ($n=8$) se trató con vehículo (control) o con los ácidos grasos de la invención (100 mg/kg). Tras un estudio realizado se observa que los ácidos grasos de la invención tienen gran eficacia para prevenir la neurodegeneración en un modelo animal ($P < 0,05$ en todos los casos).

Figura 13. Niveles de interleuquina 6 IL-6 (barra de la izquierda) y del factor de transcripción $\text{TNF}\alpha$ (barra de la derecha) en monocitos humanos en ausencia (control) o presencia de un tratamiento pro-inflamatorio con lipopolisacárido bacteriano (LPS). Las células tratadas con LPS se cultivaron en ausencia (Control+LPS) o presencia de diferentes ácidos grasos mostrados en el eje de abscisas. En un modelo celular de inflamación (monocitos U937 en cultivo estimulados con lipopolisacárido bacteriano, LPS) los ácidos grasos de la invención (250 μ M, 72 h) inhibieron significativamente la expresión de las citoquinas proinflamatorias más importantes (IL-6 y $\text{TNF}\alpha$, $P < 0,05$).

Figura 14. Temperatura de transición lamelar-hexagonal en membranas modelo de dielaidoil fosfatidiletanolamina (DEPE), medida por calorimetría diferencial de barrido. En el eje de abscisas se representan los ácidos grasos utilizados y en el eje de ordenadas la temperatura. A mayor cambio en esta temperatura de transición mayor capacidad para poder regular la estructura de las membranas, como la que envuelve al virus del SIDA por ejemplo. Los ácidos grasos de la

invención (ácido graso:DEPE 1:20, mol:mol) indujeron reducciones significativas ($P < 0,05$ en todos los casos) en la temperatura de transición lamelar-hexagonal.

Figura 15

- A. Ejemplo representativo del efecto de los ácidos grasos de la invención sobre los “membrana raft”. Membranas modelo de fosfatidilcolina-colesterol-esfingomielina (modelo de *membrane raft*) en ausencia (izquierda) o presencia (derecha) de OHOD. La presencia de este ácido graso induce una reducción en la superficie ocupada por los *membrane rafts* y el tamaño medio de los mismos.
- B. En la gráfica se muestra el efecto de diferentes ácidos grasos sobre la superficie total de *membrane rafts* (o regiones lamelares ordenadas de membrana, Lo, columna izquierda) respecto a regiones Ld (regiones lamelares desordenadas de membrana, se asigna un valor de 100% a las membranas control) y el tamaño medio (diámetro promedio) de dichos *membrane rafts* (columna derecha), en membranas de fosfatidilcolina-colesterol-esfingomielina. Los ácidos grasos de la invención disgregan la estructura de los “lipid rafts”, por lo que interfieren en la interacción virus-célula, necesaria para producir y amplificar la infección del virus.

Figura 16. Niveles de DHFR (Dihidrofolato Reductasa) en células A549 tras tratamientos con diferentes ácidos grasos (eje de abscisas) a una concentración de $100 \mu\text{M}$ durante 48 horas. Los ácidos grasos de la invención inducen una reducción muy marcada de esta enzima por lo que tienen una importante actividad en la prevención y/o tratamiento de la malaria y otros procesos infecciosos.

Descripción detallada de la invención

El amplio espectro de aplicación terapéutica que ofrecen los ácidos grasos de la presente invención permite asumir de forma generalizada que los lípidos con estructura *cis*-monoinsaturada confieren a las membranas unas propiedades estructurales específicas que permiten la correcta actividad de los procesos llevados a cabo en y por dichas membranas. Dicho de otro modo, los ácidos grasos de la invención pueden ser eficazmente utilizados para la prevención y/o el tratamiento de cualquier enfermedad cuya etiología esté relacionada bien con alteraciones de los niveles, de la composición, de la estructura, o de cualquier otro tipo de alteración, de los lípidos de las membranas biológicas o bien con una regulación alterada de la señalización celular consecuencia de dichas alteraciones en dichos lípidos presentes en las membranas biológicas.

En concreto, ciertas proteínas periféricas de señalización implicadas en la propagación de mensajes al interior celular pueden anclarse en regiones donde el empaquetamiento de superficie sea laxo (Figura 1). Los ácidos grasos con insaturaciones en configuración *cis* y sustituciones en el carbono α diferentes al H se localizan en la membrana (bien en su forma libre o formando parte de estructuras mayores como los fosfolípidos), introduciendo discontinuidades en el empaquetamiento de las cabezas polares de los fosfolípidos, que se encuentran en la superficie de la barrera celular, donde se pueden anclar proteínas G, PKC, proteínas del tipo Ras, etc. Por el contrario, los ácidos grasos saturados o *trans*-monoinsaturados evitan el acoplamiento de estas proteínas a las membranas, interfiriendo con la señalización celular. Ello no implica que se hayan de eliminar los ácidos grasos saturados de la dieta, sino que los niveles de ingesta de estos lípidos, que se producen en dietas de tipo estándar en países con un nivel de desarrollo medio o alto, son superiores a los requeridos por las células para efectuar sus funciones de forma adecuada.

En el caso de grasas con efectos negativos sobre la salud, se producen disfunciones celulares, que encuentran su manifestación en uno o varios procesos patológicos. Por el contrario, aquellos lípidos que tienen efectos beneficiosos sobre la salud, lo tienen para todas las células y, por ello, pueden actuar sobre múltiples procesos patológicos, lo que justifica que los ácidos grasos de la presente invención tengan un amplio espectro terapéutico.

El amplio espectro de aplicación terapéutica que ofrecen los ácidos grasos de la presente invención se justifica por varios fenómenos. En primer lugar, la ingesta de lípidos con efectos negativos (grasas saturadas y *trans*-monoinsaturadas) o positivos (grasas *cis*-monoinsaturadas) afecta de forma similar a todas las células del organismo, de manera que los efectos que producen, tanto negativos como positivos, se manifiestan de múltiples maneras: inducción o reducción de obesidad, hipertensión, cáncer, etc. Cuando se ingiere un determinado tipo de lípido, éste se distribuye por todo el organismo y da lugar a la regulación de las especies lipídicas de las membranas celulares de todos los órganos. Por otro lado, los cambios en los niveles de lípidos que se producen como consecuencia de determinados procesos fisiológicos o patológicos (como la aclimatación a aguas frías en peces poiquilotermos) afectan a la práctica totalidad de células del organismo (Buda *et al.*, 1994). Finalmente, los ácidos grasos pueden ser almacenados o degradados para producir energía. De hecho, estas moléculas constituyen combustibles celulares excepcionales, por lo que el uso directo de ácidos grasos no modificados tiene un impacto modesto en la salud. Sin embargo, el bloqueo de su degradación, a través de la adición de modificaciones en el carbono α , permite la permanencia de estas moléculas de forma prolongada, tanto en suero como en membranas, permitiendo así su acción terapéutica. En este sentido, hemos comprobado que los niveles plasmáticos de α -derivados de ácidos grasos *cis*-monoinsaturados se mantienen elevados tras una hora después de ser inyectados (50-60% de los niveles iniciales), mientras que los ácidos grasos naturales prácticamente han desaparecido tras este período (niveles de 2-4%). Por ello, los α -derivados de ácidos grasos *cis*-monoinsaturados utilizados en la presente invención producen una amplia gama de efectos positivos sin efectos secundarios observables. Para evidenciar que sólo los ácidos grasos con una instauración en conformación *cis* y con una sustitución en el carbono α diferente a un átomo de H, y no otras estructuras parecidas, tienen propiedades terapéuticas

a varios niveles, en la presente invención se ensayaron diferentes tipos de ácidos grasos (ver la Tabla 1) pertenecientes a grupos estructurales diferentes (1-4): α -derivados de ácidos grasos *cis*-monoinsaturados (ácidos grasos de la invención) (1), ácidos grasos con doble enlace en configuración *cis*, pero sin modificaciones en el carbono α distintos al H (2), ácidos grasos con el carbono α sustituido por radicales distintos al H, pero sin doble enlace en configuración *cis* (3), ácidos grasos sin doble enlace en configuración *cis* y sin sustituciones en el carbono α distintos al H (4).

TABLA 1

Ácido Graso	Serie	Abreviatura	Grupo estructural	(a),(b)	(X)
α -Hidroxi- <i>cis</i> - Δ^9 -hexadecenoico	16:1	OHHD	1	4, 7	OH
α -Hidroxi- <i>cis</i> - Δ^9 -octadecenoico	18:1	OHOD	1	6, 7	OH
α -Metil- <i>cis</i> - Δ^9 -octadecenoico	18:1	MOD	1	6, 7	CH ₃
α -Amino- <i>cis</i> - Δ^9 -octadecenoico	18:1	AOD	1	6, 7	NH ₂
α -Fluo- <i>cis</i> - Δ^9 -octadecenoico	18:1	FOD	1	6, 7	F
α -Trifluorometil- <i>cis</i> - Δ^9 -octadecenoico	18:1	TFMOD	1	6, 7	F ₃ C
α -Metoxi- <i>cis</i> - Δ^9 -octadecenoico	18:1	MOOD	1	6, 7	O-CH ₃
α -Mercapto- <i>cis</i> - Δ^9 -octadecenoico	18:1	SHOD	1	6, 7	HS
α -Metil- <i>cis</i> - Δ^{11} -octadecenoico	18:1	MOD11	1	4, 9	CH ₃
α -Hidroxi- <i>cis</i> - Δ^{11} -octadecenoico	18:1	OHOD11	1	4, 9	OH
α -Hidroxi- <i>cis</i> - Δ^{11} -eicosenoico	20:1	OHEE	1	6, 9	OH
α -Hidroxi- <i>cis</i> - Δ^{13} -Docosenoico	22:1	OHDE	1	6,11	OH
Cis-Eicosenoico	20:1	EE	2	6, 9	-
Cis-Docosenoico	22:1	DE	2	6,11	-
α -Hidroxi-octadecanoico	18:0	OHS	3	-	OH
Trans-Hexadecenoico	16:1	HD	2	4, 7	-
Trans-Octadecenoico	18:1	OD	4	6, 7	-
Eicosanoico	20:0	EO	4	-	-
Hexadecanoico	16:0	HDO	4	-	-
Octadecanoico	18:0	ODO	4	-	-
α -Hidroxi-trans-octadecenoico	18:1	tOHOD	3	6, 7	OH

(1) α -derivados de ácidos grasos *cis*-monoinsaturados (ácidos grasos de la invención).

(2) ácidos grasos con doble enlace en configuración *cis*, pero sin modificaciones en el carbono α .

(3) ácidos grasos con el carbono α modificado, pero sin doble enlace en configuración *cis*.

(4) ácidos grasos sin doble enlace en configuración *cis* y sin modificaciones en el carbono α .

Ejemplos

Ejemplo 1

5 *Uso de los ácidos grasos de la invención para la prevención y/o tratamiento del cáncer*

Para estudiar si los ácidos grasos de la invención tienen aplicaciones en la prevención del desarrollo de procesos tumorales, se utilizó un modelo animal de cáncer. Este modelo consistió en animales inmunodeprimidos (ratones desnudos [CrI:Nu(Ico)-Fox1]) a los que se inyectaron células de cáncer humano no microcítico de pulmón (5x10⁶ células A549 por animal). El grupo control (infectados con células de cáncer, pero no tratados), comenzó a desarrollar tumores que fueron visibles al cabo de unos días. El tamaño de los tumores se midió por primera vez 10 días después de implantar el tumor y se continuaron las medidas hasta 31 días después de dicha implantación, con un pie de rey digital. El volumen de los tumores se calculó con la siguiente ecuación:

$$15 \quad v = w^2 \times l / 2$$

donde v es el volumen del tumor, w es la anchura y l la longitud del mismo. Asimismo, se realizaron unos tratamientos preventivos frente al desarrollo de cáncer. Para llevar a cabo estos tratamientos, se administraron 400 mg/kg al día durante 2 semanas antes de la inyección de células tumorales. Este tratamiento se prolongó durante un mes, en el que se midió el volumen de los tumores a los animales. Cada grupo experimental estuvo formado por 8 animales. La administración oral de α -derivados de ácidos grasos *cis*-monoinsaturados previno el desarrollo de cáncer (células A549 de adenocarcinoma de pulmón humano) (Fig. 2). Sin embargo, la administración de ácidos grasos saturados o *trans*-monoinsaturados (tanto naturales como α -derivatizados) no previno la aparición de cáncer en animales de laboratorio. Por ello, se puede concluir que la introducción de un doble enlace con configuración *cis* en la estructura del ácido graso es un factor crítico en la prevención y tratamiento del desarrollo de cáncer producida por los ácidos grasos. Asimismo, la presencia de una modificación en el carbono α aumenta de forma significativa y muy marcada la eficacia de prevención y tratamiento del desarrollo de cáncer por el tratamiento con ácidos grasos monoinsaturados (Fig. 2). En este sentido, los α -derivados de ácidos grasos *cis*-monoinsaturados (OHHD, OHOD, MOD, AOD, FOD, TFMOD, MOOD, SHOD, MOD11, OHEE y OHDE) tienen un efecto más marcado que los ácidos grasos *cis*-monoinsaturados sin derivatizar en posición alfa (EE, DE, HOD, ODO), que los ácidos grasos saturados de idéntica longitud (HD, OD, EO), y que los α -derivados de ácidos grasos cuando no son *cis*-monoinsaturados (OHS, tOHOD) (ver Tabla 1).

Por otro lado, se emplearon una serie de α -derivados de ácidos grasos *cis*-monoinsaturados para investigar su efectividad para el tratamiento de cáncer. Para ello, se realizaron varios tipos de experimentos. En primer lugar, se estudió la dependencia de la concentración sobre el efecto antitumoral de los compuestos estudiados. Para realizar estos experimentos, se cultivaron células de cáncer de pulmón humano (A549) en medio RPMI suplementado con 10% de albúmina bovina fetal, 10 mM Hepes (pH 7,4), 2 mM glutamina, 2 g/l bicarbonato, 1 g/l glucosa, 100 unidades/ml penicilina, 0.1 mg/ml estreptomicina, 0.25 μ g/ml Amfotericina B, a 37°C y en presencia de 5% CO₂. En una primera serie experimental, se trataron dichas células con diferentes concentraciones (0-400 μ M) de OHOD y MOD 11 y se determinó el número de células a través de citometría de flujo (Fig. 3A). Ambos compuestos redujeron el crecimiento de células tumorales, mostrando valores de IC₅₀ (concentración que reduce al 50% el número de células viables) en el rango de 50 a 100 μ M, tras 48 horas de incubación. Dosis de 200 a 400 μ M produjeron en todos los casos la eliminación total de células tumorales. Por otro lado, se investigó la eficacia antitumoral relativa de estos en células A549 de cáncer de pulmón a una concentración única (150 μ M) y a un tiempo de 48 horas (Fig. 3B). En estos cultivos, la incubación con 150 μ M de α -derivados de ácidos grasos *cis*-monoinsaturados produjo una inhibición del crecimiento de células tumorales, lo que indica que son moléculas adecuadas para el tratamiento de cáncer. Las moléculas con derivatización en el carbono α (independientemente del tipo de modificación) y con un doble enlace en configuración *cis* (pero no en configuración *trans*) mostraron eficacia antitumoral, de acuerdo con la fórmula arriba indicada. Por el contrario, las moléculas que carecían de una modificación en el carbono alfa (EE, DE, HD, OD, EO, HDO, ODO) no mostraron eficacia antitumoral. De forma similar, las moléculas con doble enlace en posición *trans* (tOHOD) o sin doble enlace (OHS, EO, HDO, ODO, OHS) carecieron de eficacia antitumoral. Obviamente, entre las moléculas anteriores hay algunas que carecen de modificación en el carbono alfa y doble enlace en configuración *cis* (EO, HDO, ODO) que carecían de efecto terapéutico. Estos resultados demuestran que sólo aquellos ácidos grasos que se ajustan a la Fórmula I tienen eficacia terapéutica.

En otra serie experimental, diseñada para conocer si estas moléculas sirven para el tratamiento de diferentes tipos de tumores, se estudió el efecto de OHOD a varias concentraciones en células humanas de diferentes tipos de cáncer. Estos experimentos se realizaron como se describió anteriormente, excepto que las líneas celulares M220 y HT-29 se cultivaron en medio DMEM y la línea MDA-MB-231 se incubó en medio L-15 Leibowitz suplementado con 15% de albúmina bovina fetal. En este sentido, se pudo comprobar que estas moléculas tienen un amplio espectro de acción, por lo que su uso se puede extender al tratamiento de varios tipos de cáncer (ver la Tabla 2 donde se muestra el mecanismo de acción y el efecto antitumoral en diferentes tipos de cáncer). Dado que estas moléculas no indujeron efectos secundarios de relevancia, que se pueden administrar de forma oral y se pueden tomar en grandes cantidades, su uso puede realizarse tanto a través de aproximaciones nutracéuticas como farmacéuticas. En aquellos casos en los que la naturaleza del proceso tumoral lo requiera, la utilización puede ser de tipo tópico (utilización sobre la piel de los productos activos para el tratamiento de melanoma u otras alteraciones cutáneas de naturaleza tumoral), que puede considerarse cosmético en los casos en los que además se pretenda corregir defectos de naturaleza estética.

TABLA 2

Línea celular	Tipo de cáncer	Mecanismo de acción ¹	Efecto antitumoral ²
PC3	Próstata	P A	+++
LNcaP	Próstata	A	+++
MDA-MB-231	Mama	A	++
M220	Páncreas	A	++
L-1210	Leucemia-linf	A	+++
Jurkat	Leucemia-linf	A	+++
HL-60	Leucemia-miel	P D A	+++
HeLa	Cérvix	A	+++
HT-29	Colon	A	++
C-6	Cerebro-glio	P D	+++
SH-SY5Y	Cerebro-nblast	P	+
A549	Pulmón	P D	+++
T98G	Glioma	D	+++
A172	Glioma	D	++
A118	Glioma	D	+++
SF-767	Glioma	D	++
U87-MG	Glioma	D	+++
SF-268	Glioma	nd	+++
MCF7	Mama	nd	+++
NCI-H460	Pulmón (CPNM)	nd	+++
IMR90	Normal Fibroblasts	nd	-

¹ P [antiproliferativo] D [diferenciación] A [apoptosis] nd [no determinado]

² +[inhibición de crecimiento], ++[parada total de crecimiento], +++[eliminación total de células tumorales]

Por otro lado, los α -derivados de ácidos grasos *cis*-monoinsaturados son capaces de inducir la expresión de cadherina. La cadherina es una proteína de adhesión celular. Las células que la expresan no suelen desplazarse de su ubicación tisular, ya que están adheridas a las células del entorno. Las células tumorales que pierden la capacidad de sintetizar esta proteína pueden migrar desde el tejido donde se han generado hasta otros tejidos corporales, donde pueden desarrollar un nuevo foco tumoral a partir de un proceso conocido como metástasis. En tratamientos con α -derivados de ácidos grasos *cis*-monoinsaturados, se observó un aumento significativo de los niveles de cadherina (Figura 4). Por otra parte, la capacidad invasiva de células cancerosas se investigó en un modelo de invasión de placa de cultivo. En este modelo, se dejan crecer las células hasta que invaden todo el sustrato del frasco de cultivo. A continuación, se realiza un raspado en una zona del frasco de cultivo y se cuenta el número de células que invade esa región a diferentes tiempos, en presencia o ausencia del compuesto anti-metastásico. Como muestra la Figura 5, las células de cáncer de pulmón cultivadas en presencia de OHOD tienen una capacidad invasiva inferior a la que presentan las células no tratadas. Estos resultados indican que estos α -derivados de ácidos grasos *cis*-monoinsaturados pueden ser empleados para prevenir o tratar el desarrollo de metástasis tumorales.

Además, los α -derivados de ácidos grasos *cis*-monoinsaturados impiden la proliferación de células vasculares (ver adelante), lo que impide la creación de vasos sanguíneos, necesaria para el desarrollo de tumores. Por ello, estas moléculas pueden ser utilizadas como anti-angiogénicas tumorales.

Todos estos datos indican que los α -derivados de ácidos grasos *cis*-monoinsaturados son agentes que pueden ser utilizados en la (a) prevención y (b) el tratamiento del cáncer por su efecto directo sobre las células tumorales. Además, son agentes de amplio espectro, ya que impiden el crecimiento de una amplia gama de células tumorales de muy variada naturaleza. Debido a su falta de toxicidad se pueden usar en poblaciones de alto riesgo, como fumadores, personas expuestas a riesgos biológicos o radiológicos que puedan derivar en desarrollo de cáncer, portadores de alteraciones genéticas o somáticas asociadas al desarrollo de tumores de diversa índole, etc. Asimismo, se pueden utilizar en la prevención o tratamiento de los procesos de metástasis y angiogénesis en pacientes en los que se haya desarrollado algún proceso tumoral. Estas moléculas se pueden administrar de forma oral y no presentan efectos tóxicos aparentes, por lo que se pueden emplear como medicamentos o como alimentos funcionales. Además, su utilización en tumores de piel puede ser de tipo tópico.

Ejemplo 2

Utilización de los ácidos grasos de la invención para la prevención y/o tratamiento de la proliferación de células vasculares y otras patologías del corazón y vasos sanguíneos

La proliferación de células vasculares está en la base de determinadas patologías, como aterosclerosis, cardiomiopatías, hiperplasia cardíaca, hipertensión y otras patologías cardíacas y de la vasculatura, así como la angiogénesis tumoral. Para determinar la eficacia de los α -derivados de ácidos grasos *cis*-monoinsaturados contra la proliferación de células vasculares, se estudió el efecto de diferentes ácidos grasos sobre la multiplicación de células A10, que son células vasculares normales de origen aórtico. En este sentido, los α -derivados de ácidos grasos *cis*-monoinsaturados empleados mostraron tener una elevada potencia para inhibir la hiper-proliferación de células vasculares A10. Este efecto no es tóxico, ya que el número de células no disminuyó tras la adición de los compuestos, sino que evitó la proliferación en presencia de suero fetal, que contiene moléculas que inducen la multiplicación celular. Para cultivar las células A10 se empleó medio RPMI 1640 suplementado con suero fetal bovino, empleando otros aditivos y condiciones indicados anteriormente. Al medio de cultivo se añadieron los ácidos grasos listados en la Tabla 1, utilizando dos controles de crecimiento. El primero de ellos, carecía de cualquier ácido graso, mientras que el segundo carecía de ácidos grasos y de suero fetal bovino (Sin Suero). Finalmente, se realizó el recuento de células mediante citometría de flujo.

Los α -derivados de ácidos grasos *cis*-monoinsaturados indujeron una detención de la proliferación celular similar a la que produce la retirada de suero fetal bovino (que contiene múltiples factores de crecimiento celular) a una concentración de 200 μ M (Figura 6). Estos datos indican que los α -derivados de ácidos grasos *cis*-monoinsaturados son moléculas que pueden ser usadas para la prevención y tratamiento de aterosclerosis, cardiomiopatías, angiogénesis dependiente de tumores, hiperplasia cardíaca, hipertensión y otras patologías relacionadas, a través de medicamentos o alimentos funcionales.

Por el contrario, los ácidos grasos que no presentan dobles enlaces, o el doble enlace tiene configuración *trans*, no son eficaces a la hora de reducir la proliferación de células de aorta, A10. De forma similar, los ácidos grasos que no presentaban modificaciones en el carbono α , no tuvieron efectos importantes sobre la proliferación de células A10. En cambio, los ácidos grasos con el doble enlace en configuración *cis* y una modificación en el carbono α , produjeron efecto, con independencia del radical que introducido en dicho carbono. Por otro lado, la angiogénesis tumoral viene mediada por la proliferación de células vasculares alrededor de cánceres. Por ello, los α -derivados de ácidos grasos *cis*-monoinsaturados son potentes anti-angiogénicos, que pueden ser empleados también para evitar la proliferación de vasos sanguíneos que aporten nutrientes a los tumores de nueva formación.

En otra serie experimental, se investigó la eficacia de diferentes ácidos grasos para prevenir la aparición de hipertensión. Para ello, se trataron ratas hipertensas (SHR) con α -derivados de ácidos grasos *cis*-monoinsaturados y otros ácidos grasos (Fig 7). Las ratas SHR son normotensas durante sus primeros meses de vida, hasta que llegan a la madurez y adquieren su condición de hipertensas (entre los 3 y 4 meses de edad). Para determinar si los derivados empleados eran capaces de prevenir el desarrollo de hipertensión, se trataron ratas SHR de 10 semanas con diferentes ácidos grasos. Estos animales son todavía normotensos a esta edad, teniendo una presión arterial de entre 130 y 140 mmHg, que fue medida al inicio del tratamiento. Los animales se dividieron en grupos experimentales de 8 animales de forma que la media de presión arterial fuera similar en todos los grupos (valores de media entre 128 y 132 mmHg para todos los grupos al inicio del experimento). El estudio de la prevención del desarrollo de hipertensión se realizó administrando a los animales una dosis de 200 mg/kg al día durante 10 semanas y se midió la presión arterial al final del tratamiento. En la figura 7, se observa que los animales tratados con α -derivados de ácidos grasos *cis*-monoinsaturados no desarrollaron hipertensión, mientras que los no tratados o tratados con ácidos grasos que no se ajustan a la estructura mostrada en la Fórmula I, sí que desarrollaron hipertensión. Este resultado es claramente diferente del de un efecto para el tratamiento de la hipertensión, ya que la prevención evita que los animales padezcan hipertensión en algún momento de su vida. Por ello, la prevención del desarrollo de hipertensión evitaría todos los problemas asociados a dicho estado, como la hipertrofia cardíaca, el riesgo de accidente cardiovascular, de isquemia, etc.

Todos estos resultados demuestran que la estructura indicada en la Fórmula I es la adecuada tanto para la prevención como para el tratamiento de patologías relacionadas con la proliferación de células del corazón o vasos sanguíneos. Estos tratamientos se pueden realizar a través de aproximaciones farmacéuticas, nutracéuticas y tópicos/estéticas.

La aterosclerosis o arteriosclerosis es una patología caracterizada por la pérdida de contractibilidad de los vasos sanguíneos. Dicha pérdida está asociada a diversos factores, entre los que se encuentran la formación de depósitos en el lumen vascular que dan lugar a la proliferación de células vasculares, la reducción del flujo sanguíneo y la respuesta vasoconstrictora y vasodilatadora a neurotransmisores (tales como la noradrenalina) y a hormonas. En estudios en aorta de rata aislada en baño de órganos, hemos podido comprobar que el poder de contracción del músculo aórtico en respuesta a noradrenalina aumenta de forma muy marcada tras pretratamientos con ácido OHOD. Además, todos los compuestos que se ajustan a la Fórmula I producen efectos similares sobre la musculatura vascular. Estos resultados indican claramente la capacidad de estos compuestos para prevenir o tratar la aterosclerosis y patologías relacionadas. En la Figura 8 se muestra el efecto del pretratamiento *in vitro* (baño de órganos) con OHOD sobre la capacidad de contracción de aorta de ratas SHR. Como demuestra la figura, la capacidad de contracción inducida por noradrenalina (NA) es mucho mayor en aorta de ratas pretratadas con este ácido graso. Este resultado indica claramente que la flexibilidad del tejido vascular aumenta de forma significativa ($P < 0,05$) en presencia de este compuesto, lo que justifica la utilidad de α -derivados de ácidos grasos *cis*-monoinsaturados en la prevención y el tratamiento de la aterosclerosis y otras patologías cardiovasculares. Además, la mejora en la respuesta de la contractibilidad en aorta indica que estos compuestos también pueden ser empleados para el mantenimiento del tejido vascular en sujetos sanos y en el tratamiento de vasos deteriorados en pacientes de patologías cardiovasculares.

Ejemplo 3

Utilización de los ácidos grasos de la invención para la prevención y/o tratamiento de patologías cutáneas y enfermedades relacionadas

Los errores en la producción de melanina dan lugar a defectos en la pigmentación cutánea pueden ser de naturaleza patológica. Para estudiar la aplicación potencial de α -derivados de ácidos grasos *cis*-monoinsaturados al tratamiento de melanopatías, se midió la producción de melanina en melanocitos de ratón (células B16). Para ello, las células se rompieron con NaOH y se determinó la concentración de melanina por absorción espectroscópica a 490 nm, utilizando el método anteriormente descrito por Curto y colaboradores (1999). En este sentido, concentraciones de 100 μ M de estos compuestos durante 48 horas producen reducciones en el contenido en melanina en células B16 (Fig. 9). Estos resultados indican que los α -derivados de ácidos grasos *cis*-monoinsaturados que se ajustan a la fórmula I pueden emplearse para el tratamiento de problemas dermatológicos relacionados con patologías de la pigmentación. De forma similar a lo que ocurre con el tratamiento de otras patologías, los ácidos grasos que no se ajustan a la Fórmula I carecen de efectos significativos para regular el contenido de melanina (Fig. 9).

Por otro lado, la figura 9 también muestra el efecto de los α -derivados de ácidos grasos *cis*-monoinsaturados (100 μ M, 48 horas) sobre la proliferación de adipocitos (células 3T3-L1). Las moléculas que tienen la estructura delimitada por la Fórmula I inhiben el crecimiento de las células 3T3-L1, mientras que las moléculas que no tienen la estructura descrita en dicha Fórmula I no tienen efectos significativos sobre la proliferación de los adipocitos (Fig. 9). Este tipo de células adiposas pueden crecer de forma anómala o multiplicarse de forma anómala, en zonas subcutáneas (hipertrofia o hiperplasia de los adipocitos). Este crecimiento anómalo puede dar lugar a procesos patológicos de diversa índole, como la obesidad o la celulitis.

Los resultados mostrados aquí indican que los α -derivados de ácidos grasos *cis*-monoinsaturados se pueden emplear para la prevención y el tratamiento de patologías como la obesidad, la celulitis, vitiligo, la soriasis y manchas de la piel y similares. Dada la especial tipología de la piel y las capas que subyacen a ésta, el tratamiento de algunas de estas patologías puede realizarse de forma tópica, por lo que estas moléculas pueden emplearse como cosméticos. El tratamiento de estas patologías también puede realizarse a través de aproximaciones farmacológicas y nutracéuticas.

Ejemplo 4

Utilización de los ácidos grasos de la invención para la prevención y/o tratamiento de metabopatías (patologías metabólicas)

Las enfermedades metabólicas forman un conjunto de patologías caracterizadas por la acumulación o el déficit de ciertas moléculas (colesterol, triglicéridos, glucosa, etc.) en suero y tejidos. Estas alteraciones son el reflejo de disfunciones, que normalmente se asocian a errores en la actividad de ciertos enzimas o en el control de dichas proteínas. Entre las metabopatías más importantes se encuentran la hipercolesterolemia (elevados niveles de colesterol), hipertrigliceridemia (elevados niveles de triglicéridos) y la diabetes (elevados niveles de glucosa). Estas patologías tienen tasas de incidencia, de morbilidad y mortalidad elevadas, por lo que su tratamiento es una necesidad de primer orden. En este sentido, el tratamiento con OHOD produjo reducciones importantes de los niveles de colesterol, triglicéridos y glucosa (Fig. 10) en ratas Sprague-Dowley (hembras de 300 g). Para realizar estos experimentos, se suministró de forma oral, a la dosis indicada en cada caso de forma diaria (0, 200, 400 y 600 mg/kg al día). Al final del tratamiento (30 días) se extrajo sangre de los animales control y tratados ($n = 6$) y se determinaron los niveles de colesterol, triglicéridos y glucosa utilizando métodos colorimétricos estándar. Los efectos observados dependieron de la dosis, lo que indica su especificidad.

Por otro lado, se estudió el efecto de las diferentes moléculas estudiadas a dosis única (600 mg/kg). En estos estudios, los α -derivados de ácidos grasos *cis*-monoinsaturados mostraron un efecto importante sobre la reducción de colesterol, triglicéridos y glucosa. En cambio, las moléculas que no tienen la estructura arriba indicada, tampoco tienen efectos terapéuticos (Fig. 10). En este sentido, la modificación en el carbono α y el doble enlace en la configuración *cis* son elementos cruciales para producir el efecto terapéutico arriba indicado. Aquellas moléculas análogas que no se ajustan a la Fórmula I carecen de efectos para el tratamiento eficaz de hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia y diabetes (Fig. 11). Finalmente, se investigó el efecto de α -derivados de ácidos grasos *cis*-monoinsaturados sobre la prevención de la obesidad. Para ello, se utilizó un modelo de rata con obesidad inducida por dieta de cafetería, una alimentación hipercalórica que aumenta el peso de los animales de forma muy marcada. Se realizaron varios grupos experimentales (ver Tabla 3), cada uno consistente en 6 ratas hembras Wistar Kyoto de 250-300 g de peso. Todos los animales recibieron una dieta estándar durante 2 semanas. Además, 2 de los grupos recibieron un pre-tratamiento preventivo oral de vehículo y los otros grupos recibieron 300 mg/kg de los ácidos grasos abajo indicados. Después, uno de los grupos control se mantuvo con dieta estándar (control delgado) y al otro se le alimentó con dieta de cafetería (control obeso). Asimismo, los grupos de animales tratados se alimentaron con dieta de cafetería. En todos los grupos se mantuvo el pre-tratamiento preventivo. Después de dos semanas con estas dietas, el grupo control delgado aumentó su peso corporal un promedio de 16 ± 16 gramos, en tanto que el grupo control obeso había aumentado un promedio de 43 ± 17 gramos de peso corporal (significancia estadística, $P < 0,01$). Las ratas tratadas con α -derivados de ácidos grasos *cis*-monoinsaturados mostraron incrementos en el peso similares al control delgado y significativamente inferiores al control obeso ($P < 0,05$), con respecto al cuál consumían una misma dieta. Por lo tanto, los animales pre-tratados con estos ácidos grasos presentaban reducciones marcadas y estadísticamente significativas con respecto a los animales que recibían una dieta de cafetería idéntica. En cambio, el peso de los animales tratados era estadísticamente inferior al peso de las ratas obesas y estadísticamente indistinguibles de las ratas delgadas. Estos resultados indican que los α -derivados de ácidos grasos *cis*-monoinsaturados constituyen moléculas activas para la prevención del desarrollo de obesidad.

(Tabla pasa a página siguiente)

TABLA 3

		Peso inicio estudio	Peso fin estudio
5	DIETA RECIBIDA Y TRATAMIENTO PREVENTIVO		
10	Estándar+tratamiento vehículo (Control delgado)	264±21	280±16
	Cafetería+tratamiento vehículo (Control obeso)	265±14	308±17
	Cafetería+tratamiento OHHD	259±21	275±19*
15	Cafetería+tratamiento OHOD	269±11	284±13*
	Cafetería+tratamiento MOD	255±12	268±12*
20	Cafetería+tratamiento AOD	249±14	272±15*
	Cafetería+tratamiento FOD	261±13	279±13*
	Cafetería+tratamiento TFMOD	262±12	278±14*
25	Cafetería+tratamiento MOOD	251±21	263±22*
	Cafetería+tratamiento SHOD	254±16	269±16*
30	Cafetería+tratamiento MOD11	257±16	274±18*
	Cafetería+tratamiento OHOD11	256±10	269±12*
	Cafetería+tratamiento OHEE	252±9	264±11*
35	Cafetería+tratamiento OHDE	260±12	273±15*
	Cafetería+tratamiento EE	258±14	301±17‡
40	Cafetería+tratamiento DE	253±11	305±12‡
	Cafetería+tratamiento HDO	255±15	299±15‡
45	Cafetería+tratamiento ODO	259±19	301±18‡
	Cafetería+tratamiento EO	262±12	298±12‡
	Cafetería+tratamiento HD	260±16	309±15‡
50	Cafetería+tratamiento OD	259±14	311±17‡
	Cafetería+tratamiento OHS	251±10	314±11‡
55	Cafetería+tratamiento tOHOD	258±17	312±19‡
	* Significativamente inferior a control obeso (P<0,05)		
60	‡ Estadísticamente indistinguible del control obeso (P>0,05)		

Por otro lado, la combinación de varias de estas patologías da lugar a un proceso denominado síndrome metabólico. Los resultados mostrados en esta sección indican claramente que los α -derivados de ácidos grasos *cis*-monoinsaturados son moléculas muy activas para la prevención y el tratamiento de la hipercolesterolemia, la hipertrigliceridemia, la diabetes, el síndrome metabólico, la obesidad, y otras metabolopatías, a través de aproximaciones farmacéuticas o nutracéuticas.

Ejemplo 5

Utilización de los ácidos grasos de la invención para la prevención y/o tratamiento de patologías neurodegenerativas

Los procesos neurodegenerativos dan lugar a una serie de enfermedades con diferentes manifestaciones, pero con la característica común de estar ocasionadas por degeneración de las células del sistema nervioso central y/o periférico. Algunos de estos procesos neurodegenerativos suponen una merma importante de la capacidad cognitiva de los pacientes, como la enfermedad de Alzheimer o la demencia senil. Otras, en cambio, dan lugar a alteraciones de tipo motor, como la enfermedad de Parkinson o diferentes tipos de esclerosis. Finalmente, ciertas patologías neurodegenerativas pueden derivar en procesos en los que se desarrolla 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, en la que se ha observado la formación de placas seniles, formadas por restos de proteínas de membrana (p.ej., el péptido β -amiloides) procesadas erróneamente, que se acumulan en el exterior de las células y de ovillos de neurofilamentos que aparecen en el interior celular. Este proceso se ha asociado a alteraciones en el metabolismo del colesterol y la consecuente alteración de los niveles de colesterol en las membranas (Raid *et al.*, 2007). De hecho, el desarrollo de esta enfermedad está relacionado con otras patologías en las que se han descrito alteraciones del metabolismo lipídico, y más concretamente del colesterol, como las de tipo cardiovascular.

Por otro lado, la esclerosis y otros procesos neurodegenerativos se relacionan con la “desmielinización”, cuyo resultado neto es la pérdida de lípidos en la cubierta de los axones neuronales, con las consiguientes alteraciones en el proceso de propagación de señales eléctricas. 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 patologías neurodegenerativas.

Dado que los lípidos que se ajustan a la Fórmula I son capaces de reducir los niveles de colesterol (Figuras 10 y 11), se podría pensar *a priori* que podrían ser efectivos para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas. Tras un estudio realizado Los α -derivados de ácidos grasos *cis*-monoinsaturados han mostrado tener una gran eficacia para prevenir la neurodegeneración en un modelo animal (Fig. 12). Los ratones transgénicos empleados en este estudio, que sobreexpresan ApoB-100, se caracterizan por un inicio temprano de un síndrome similar a la enfermedad de Alzheimer, con una importante pérdida cognitiva y características cito-histológicas similares a las que presentan los procesos neurodegenerativos en humanos. En estos animales, los tratamientos con α -derivados de ácidos grasos *cis*-monoinsaturados dieron lugar a mejoras marcadas y significativas de los parámetros cognitivos en animales. Para este estudio, se trataron los ratones (n=8) durante 6 meses con 100 mg/kg por vía oral (p.o.) 5 veces a la semana (lunes a viernes). El grupo control consistió en ratones (n=8) tratados con vehículo (agua) de forma similar al grupo problema. Para los determinar la capacidad cognitiva de los animales se emplearon el laberinto radial y el test de Miller y se definió la capacidad cognitiva de los animales control (no tratados) como 100% (Wise *et al.*, 2007; Patil *et al.*, 2006). La capacidad cognitiva de animales tratados con diferentes tipos de ácidos grasos se expresó como porcentaje de mejora en la realización de estos tests. Estos resultados indican que los α -derivados de ácidos grasos *cis*-monoinsaturados pueden ser utilizados para el tratamiento de patologías neurodegenerativas, como la enfermedad de Alzheimer, los diferentes tipos de esclerosis, enfermedad de Parkinson, etc., a través de aproximaciones farmacéuticas y nutracéuticas.

Ejemplo 6

Utilización de los ácidos grasos de la invención para la prevención y/o tratamiento de procesos inflamatorios

Los procesos inflamatorios tisulares y celulares se caracterizan por la acción de citoquinas proinflamatorias (interleuquinas-4, -6, -8, -10, TNF- α , etc.) liberadas por células del sistema inmune (linfocitos, neutrófilos, monolitos, macrófagos, etc.) tras una estimulación producida por un patógeno (infección) o una agresión antigénica. Los procesos inflamatorios causan una gran variedad de enfermedades entre las que se incluyen las cardiovasculares, las sistémicas, las del aparato locomotor, envejecimiento y enfermedades respiratorias, como el asma y la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) y las inflamaciones de diferente índole. Esta liberación descontrolada de citoquinas proinflamatorias se debe fundamentalmente a la activación patológica del factor de transcripción NF κ B (Barnes *et al.*, 1997).

En un modelo celular de inflamación (monocitos U937 en cultivo estimulados con lipopolisacárido bacteriano, LPS) los α -derivados de ácidos grasos *cis*-monoinsaturados (250 μ M, 72 h) inhibieron significativamente la expresión de las citoquinas proinflamatorias más importantes (IL-6 y TNF- α). Por el contrario, los compuestos cuya estructura no cumple la Fórmula I no inhibieron la expresión de éstas citoquinas proinflamatorias (Figura 13).

En un estudio adicional sobre la liberación de varias citoquinas proinflamatorias (IL-1b, IL-6, IL-8, IL-10) y TNF- α en monocitos U937 estimulados con lipopolisacárido bacteriano (LPS), se observó una marcada disminución de los niveles de estas moléculas tras tratamientos con OHHD a una concentración de 250 μ M y 72 h de incubación (Tabla 4).

Por otro lado, estos resultados indican que los α -derivados de ácidos grasos *cis*-monoinsaturados pueden ser eficaces para el tratamiento de la enfermedad inflamatoria autoinmune conocida como artritis reumatoide, al inhibir la producción de citocinas proinflamatorias, cuyos niveles aumentan de forma marcada en pacientes de artritis reumatoide. Por todo ello, debido a la importante inhibición de la expresión de citoquinas proinflamatorias por los α -derivados de ácidos grasos *cis*-monoinsaturados, éstos pueden utilizarse para la prevención y el tratamiento de procesos inflamatorios y artritis reumatoide, tanto a nivel sistémico como a nivel tópico y a través de aproximaciones farmacéuticas, nutracéuticas y tópicos/cosméticas.

TABLA 4

Inhibición de la liberación de citoquinas pro-inflamatorias por OHHD

Citoquina	Control (pg/ml)	LPS (pg/ml)	LPS + OHHD (pg/ml)
IL-1b	12±2	132±2	41±5
IL-6	24±3	1072±4	68±8
IL-8	345±7	967±8	529±7
IL-10	32±1	315±9	53±3
TNF- α	15±6	1504±7	65±9

P<0,001. Media $\pm$ error estándar de 6 experimentos realizados por triplicado.

Ejemplo 7

Utilización de los ácidos grasos de la invención para la prevención y/o tratamiento de patologías infecciosas

El síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) está producido por la infección con el picornavirus de inmunodeficiencia humana (VIH). Este virus tiene una envuelta lipídica, de forma que la integridad de la envuelta viral es imprescindible para la fusión con la membrana de las células humanas. Los α -derivados de ácidos grasos *cis*-monoinsaturados modifican la estructura de membranas modelo similares a las que tiene el virus del SIDA (Figura 14), por lo que pueden ser empleados para el tratamiento de esta enfermedad.

Por otro lado, la unión entre el virus VIH y la célula huésped se realiza a través del receptor CD4. Esta proteína de células eucariotas se encuentra ubicada en regiones específicas de la membrana celular denominadas "membrane rafts". Los α -derivados de ácidos grasos *cis*-monoinsaturados disgregan la estructura de los lipid rafts, por lo que interfieren en la interacción virus-célula, necesaria para producir y amplificar la infección (Figura 15). Por todo ello, los α -derivados de ácidos grasos *cis*-monoinsaturados pueden ser empleados para la prevención y el tratamiento del SIDA.

Por otro lado, la malaria es, como el SIDA, una enfermedad infecciosa que en este caso es producida por el protozoo denominado *Plasmodium falciparum*. Este organismo tiene una división celular muy rápida, por lo que necesita sintetizar ADN de forma constante. Para la síntesis de ADN se precisa elevados niveles de tetrahidrofolato, que actúa como co-enzima en algunos enzimas encargados de producir nucleótidos para sintetizar ADN. El enzima encargado de producir tetrahidrofolato es la Dihidrofolato Reductasa (DHFR). Por ello, actualmente se están empleando inhibidores de la DHFR, como el metotrexato, para tratar la malaria (Nduati y cols. 2008). Los α -derivados de ácidos grasos *cis*-monoinsaturados inducen una reducción muy marcada de este enzima, lo que induce una caída importante de los niveles de DHFR (Figura 16), por lo que pueden tener una importante actividad frente al desarrollo de malaria. Frente a fármacos como el metotrexato, los α -derivados de ácidos grasos *cis*-monoinsaturados presentan dos ventajas. Por un lado, tienen una toxicidad menor. Por otra parte, la reducción de la expresión del enzima es un mecanismo mucho más eficaz que la inhibición del mismo (que produce elevados niveles de enzima que pueden activarse al acabar el tratamiento). Por todo ello, los α -derivados de ácidos grasos *cis*-monoinsaturados pueden constituir fármacos para el tratamiento eficaz de la malaria.

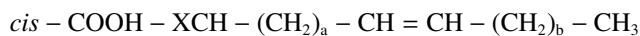
Asimismo, los agentes que inhiben la producción de tetrahidrofolato son agentes antibacterianos eficaces. Este hecho, junto a las evidencias presentadas en este ejemplo acerca de la efectividad de los α -derivados de ácidos grasos *cis*-monoinsaturados frente al desarrollo de procesos infecciosos de índole muy diversa, indica que estas moléculas pueden ser eficaces agentes para la prevención o el tratamiento de patologías de naturaleza infecciosa.

Referencias

1. **Alemany R, Perona JS, Sánchez-Domínguez JM, Montero E, Cañizares J, Brezan R, Escribá PV y Ruiz-Gutiérrez V (2007)** G protein-coupled receptor systems and their lipid environment in health disorders during aging. *BBA Biomembr.* **1768**:964-975.
2. **Barnes PJ, Karin M.** Nuclear factor-kappaB: a pivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases. *N Engl J Med* 1997; **336**:1066-71
3. **Buda C, Dey I, Balogh N, Horvath LI, Maderspach K, Juhasz M, Yeo YK, Farkas T (1994)** Structural order of membranes and composition of phospholipids in fish brain cells during thermal acclimatization. *Proc. Natl. Acad. Sci USA* **91**:8234-8238.
4. **Curto EV, Kwong C, Hersmerdorfer H, Glatt H, Santis C, Virador V, Hearing VJ, Jr., Dooley TP (1999)** *Biochem Pharmacol* **57**:663-672
5. **Escritá PV, Sastre M, García-Sevilla JA. (1995)** Disruption of cellular signaling pathways by daunomycin through destabilization of nonlamellar membrane structures. *Proc Natl Acad Sci USA.* **92**:7595-7599.
6. **Escritá PV, Ozaita A, Ribas C, Miralles A, Fodor E, Farkas T, García-Sevilla JA (1997)** Role of lipid polymorphism in G protein-membrane interactions: nonlamellar-prone phospholipids and peripheral protein binding to membranes. *Proc Natl Acad Sci USA.* **94**:11375-11380.
7. **Escritá PV (2006)** Membrane-lipid therapy: a new approach in molecular medicine. *Trends Mol. Med.* **12**: 34-43
8. **Escritá PV, González-Ros JM, Goñi FM, Kinnunen PKJ, Vigh L, Sánchez-Magraner L, Fernández AM, Busquets X, Horváth I, Barceló-Coblijn G (2008)** Membranes: A meeting point for lipids, proteins and therapies. *J Cell. Mol. Med.* **12**:829-875.
9. **Martínez J, O, Casas J, F, Alemany R, Prades J, Nagy T, Baamonde C, Kasprzyk P, Terés S, Saus C, Escritá PV. (2005)** Membrane structure modulation, protein kinase C alpha activation, and anticancer activity of minerval. *Mol Pharmacol* **67**:531-40.
10. **Nduati y cols.** Effect of folate derivatives on the activity of antifolate drugs used against malaria and cáncer. *Parasitol Res* **102**: 1227-1234 (2008).
11. **Patil CS, Singh VP, Kulkarni SK (2006)** Modulatory effect of Sildenafil in diabetes and electroconvulsive shock-induced cognitive dysfunction in rats. *Pharmacological Reports* **58**:373-380.
12. **Raid PC, Urano Y, Kodama T, Hamakubo T. (2007)** Alzheimer's disease: cholesterol, membrane rafts, isoprenoids and statins. *J Cell Mol Med* **11**:383-392
13. **Stender S, Dyerberg J (2004)** Influence of trans fatty acids on health. *Ann. Nutr. Metab.* **48**:61-66.
14. **Wise LE, Iredale PA, Stokes RJ, Litchman AH (2007)** Combination of Rimonabant and Donepezil prolongs spatial memory duration. *Neuropsychopharmacology* **32**:1805-1812.
15. **Yang, Q, Alemany, R, Casas, J, Kitajka, K, Lanier, SM, Escritá PV (2005)** Influence of the membrane lipid structure on signal processing via G protein-coupled receptors. *Mol Pharmacol* **68**:210-7.

REIVINDICACIONES

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



donde (a) y (b) pueden tener cualquier valor entre 0 y 14, y (X) puede sustituirse por cualquier átomo o grupo de átomos con un peso entre 4 y 200 Da seleccionados entre: alcoholes, ácidos orgánicos, grupos alquilo, grupos amino, halógenos, halógenos de alquilo, grupos alquiloxi y grupos mercapto, para ser usados como medicamentos en humanos y animales; exceptuando los compuestos de Fórmula I donde (X) se sustituye por OH, NH₂ o CH₃ para la prevención y tratamiento de enfermedades cardiovasculares y obesidad, o para el tratamiento del cáncer.

2. Compuestos de Fórmula I, o sus derivados farmacéuticamente aceptables, donde (a) y (b) pueden tener cualquier valor entre 0 y 14 y (X) puede sustituirse por cualquier átomo o grupo de átomos con un peso entre 4 y 200 Da seleccionados entre: alcoholes, ácidos orgánicos, grupos alquilo, grupos amino, halógenos, halógenos de alquilo, grupos alquiloxi y grupos mercapto, para ser usados en la prevención y/o tratamiento 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; exceptuando los compuestos de Fórmula I donde (X) se sustituye por OH, NH₂ o CH₃ para la prevención y tratamiento de enfermedades cardiovasculares y obesidad, o para el tratamiento del cáncer.

3. Compuestos de Fórmula I, según las reivindicaciones 1 ó 2, donde (X) es sustituido por un grupo seleccionado entre: OH, NH₂, CH₃, F, F₃C, HS y O-CH₃.

4. Compuesto de Fórmula I, según las reivindicaciones 1 ó 2, seleccionados del grupo: OHHD, OHOD, MOD, AOD, FOD, TFMOD, MOOD, SHOD, MOD11, OHOD11, OHEE y OHDE.

5. Compuestos de Fórmula I, según la reivindicación 2, donde (a) y (b) pueden tener cualquier valor entre 0 y 14 y (X) se sustituye por un grupo seleccionado entre: OH, NH₂ y CH₃, para ser usados en la prevención del cáncer y/o en la prevención y/o tratamiento de patologías cutáneas, patologías neurodegenerativas, procesos inflamatorios o patologías infecciosas.

6. Compuestos de Fórmula I, según la reivindicación 2, donde (a) y (b) pueden tener cualquier valor entre 0 y 14 y (X) se sustituye por un grupo seleccionado entre: F, F₃C, HS y O-CH₃, para ser usados en la prevención y/o tratamiento del cáncer, patologías vasculares, patologías cutáneas, patologías metabólicas, patologías neurodegenerativas, procesos inflamatorios o patologías infecciosas.

7. Uso de al menos un compuesto de Fórmula I y/o de sus derivados farmacéuticamente aceptables, donde (a) y (b) pueden tener cualquier valor entre 0 y 14 y (X) puede sustituirse por cualquier átomo o grupo de átomos con un peso entre 4 y 200 Da, seleccionados entre: alcoholes, ácidos orgánicos, grupos alquilo, grupos amino, halógenos, halógenos de alquilo, grupos alquiloxi y grupos mercapto, para la elaboración de una composición farmacéutica y/o nutracéutica destinada a la prevención y/o tratamiento 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; exceptuando el uso de los compuestos de Fórmula I donde (X) se sustituye por OH, NH₂ o CH₃ para la prevención y tratamiento de enfermedades cardiovasculares y obesidad, o para el tratamiento del cáncer.

8. Uso, según la reivindicación 7, donde (X) es sustituido por un grupo seleccionado entre: OH, NH₂, CH₃, F, F₃C, HS y O-CH₃.

9. Uso, según la reivindicación 7, donde los compuestos de Fórmula I se seleccionan entre: OHHD, OHOD, MOD, AOD, FOD, TFMOD, MOOD, SHOD, MOD11, OHOD11, OHEE y OHDE.

10. Uso, según la reivindicación 7, donde (X) se sustituye por un grupo seleccionado entre: OH, NH₂, CH₃, para la elaboración de una composición farmacéutica y/o nutracéutica destinada a la prevención del cáncer y/o a la prevención y/o tratamiento de patologías cutáneas, patologías neurodegenerativas, procesos inflamatorios o patologías infecciosas.

11. Uso, según la reivindicación 7, donde (X) se sustituye por un grupo seleccionado entre: F, F₃C, HS y O-CH₃, para la elaboración de una composición farmacéutica y/o nutracéutica destinada a la prevención y/o tratamiento del cáncer, patologías vasculares, patologías cutáneas, patologías metabólicas, patologías neurodegenerativas, procesos inflamatorios o patologías infecciosas.

12. Método cosmético, no terapéutico, para mejorar la apariencia cutánea que comprende la administración sobre la piel de una cantidad eficaz de al menos un compuesto de Fórmula I, y/o de sus formas farmacéuticamente o cosméticamente aceptables, donde (a) y (b) pueden tener cualquier valor entre 0 y 14 y (X) puede sustituirse por cualquier átomo o grupo de átomos con un peso entre 4 y 200 Da, seleccionados entre: alcoholes, ácidos orgánicos, grupos alquilo, grupos amino, halógenos, halógenos de alquilo, grupos alquiloxi y grupos mercapto.

ES 2 342 997 B1

13. Método, según la reivindicación 12, donde (X) es sustituido por un grupo seleccionado entre: OH, NH₂, CH₃, F, F₃C, O-CH₃ y HS.

14. Método, según la reivindicación 12, donde los compuestos de Fórmula I son seleccionados del grupo: OHHD, OHOD, MOD, AOD, FOD, TFMOD, MOOD, SHOD, MOD11, OHOD11, OHEE y OHDE.

15. Método, según la reivindicación 12, donde los compuestos de Fórmula I son administrados por vía tópica.

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

FIGURA 1

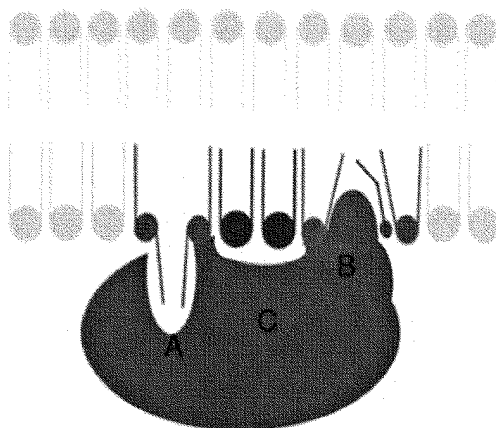


FIGURA 2

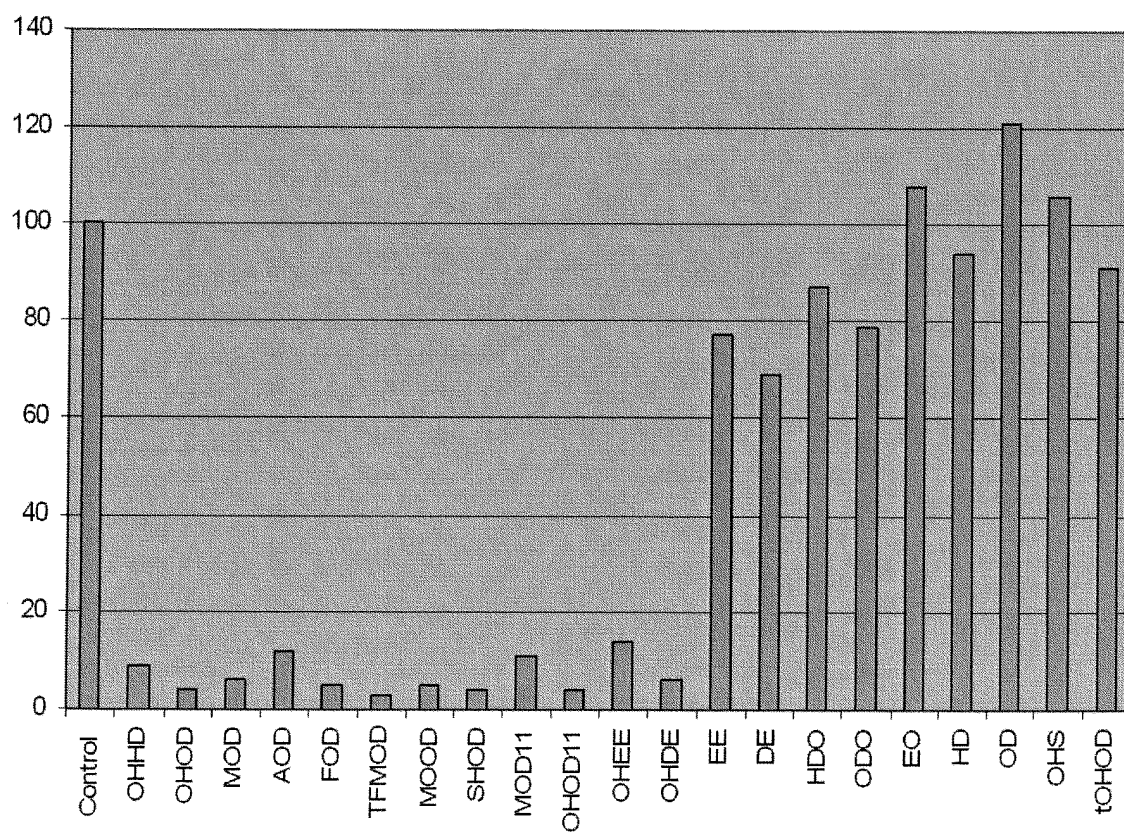
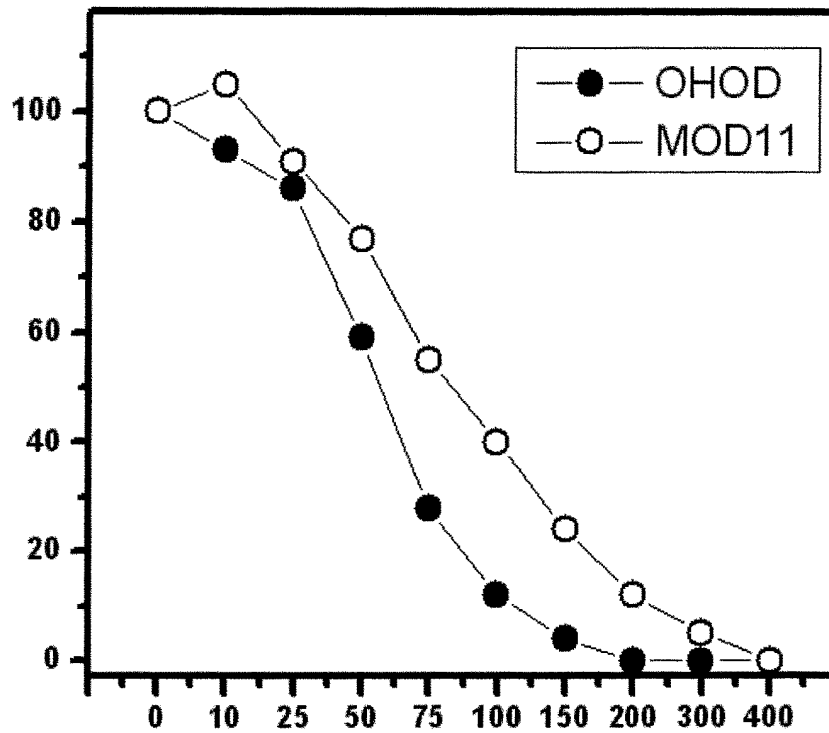


FIGURA 3

A



B

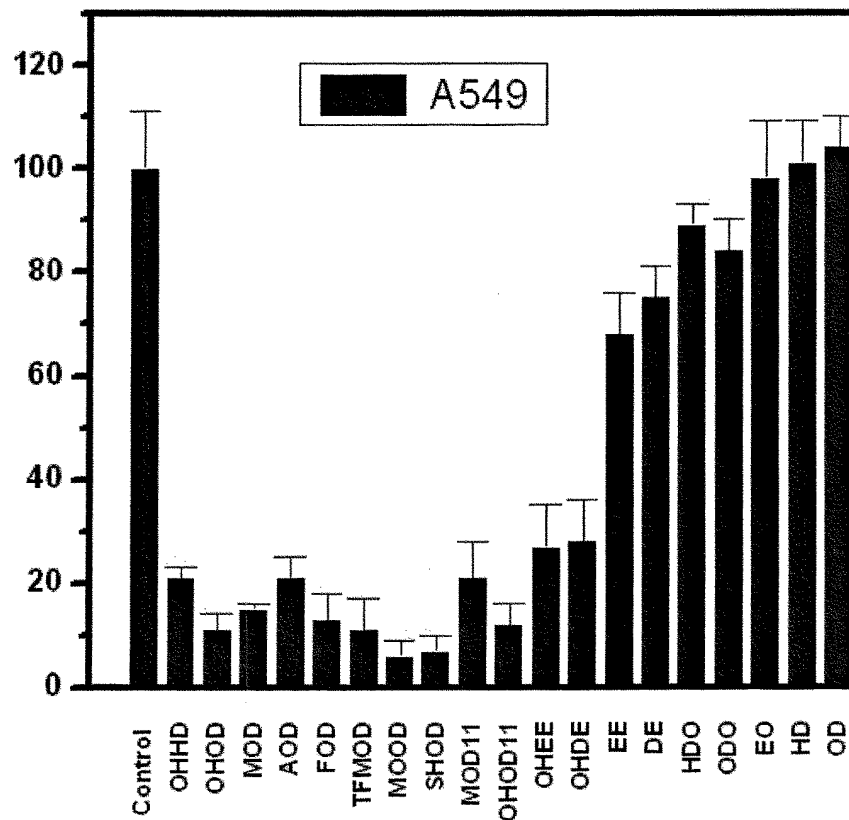


FIGURA 4

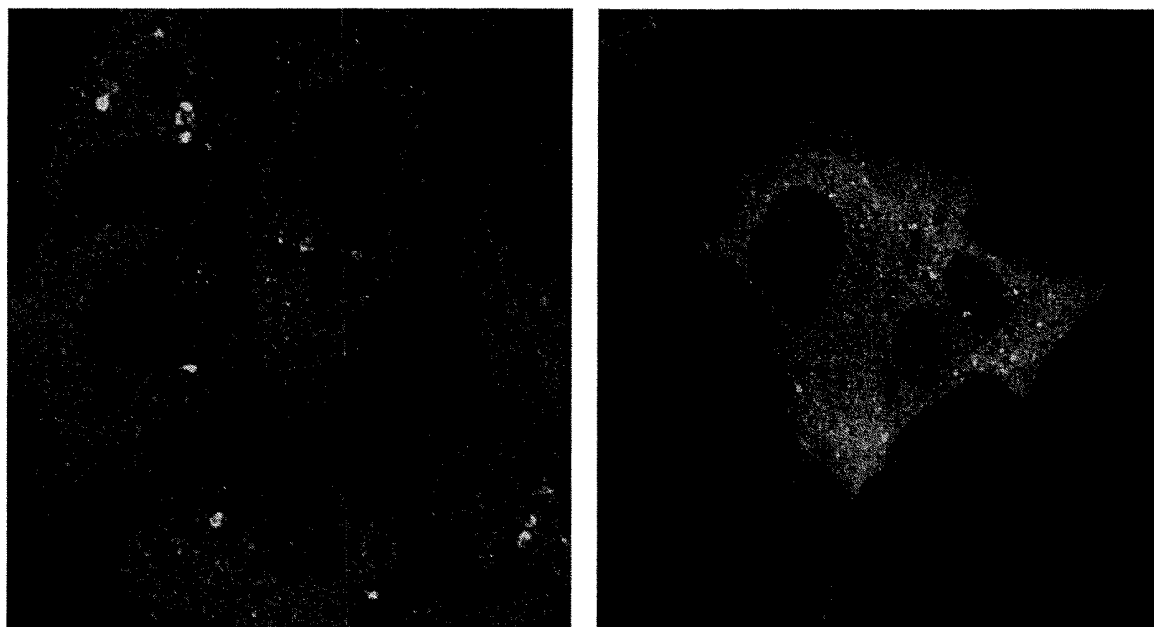


FIGURA 5

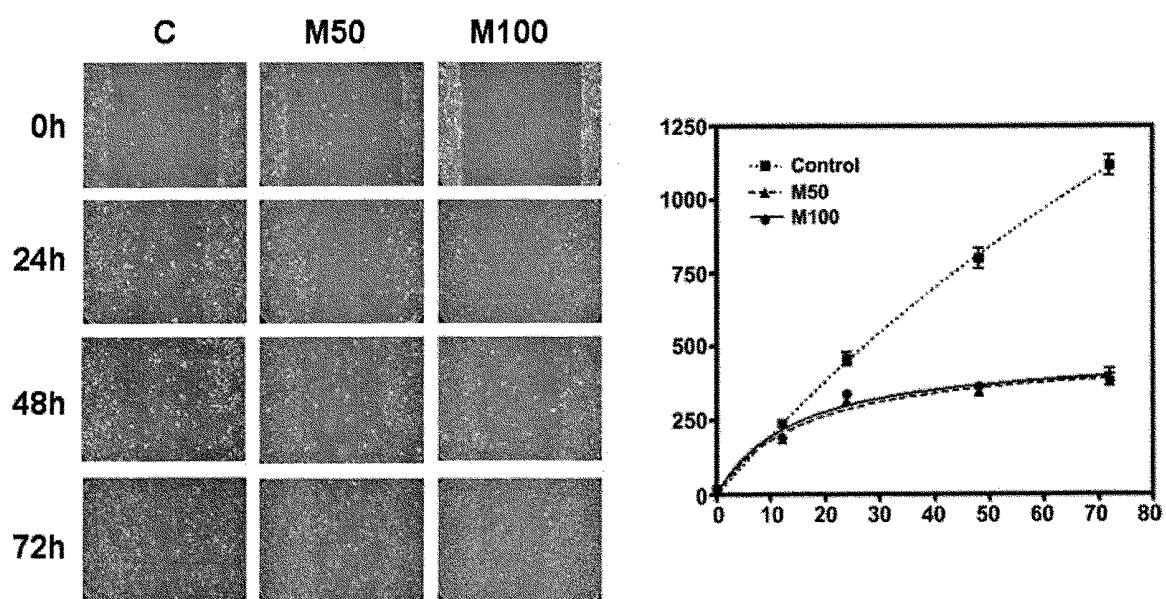


FIGURA 6

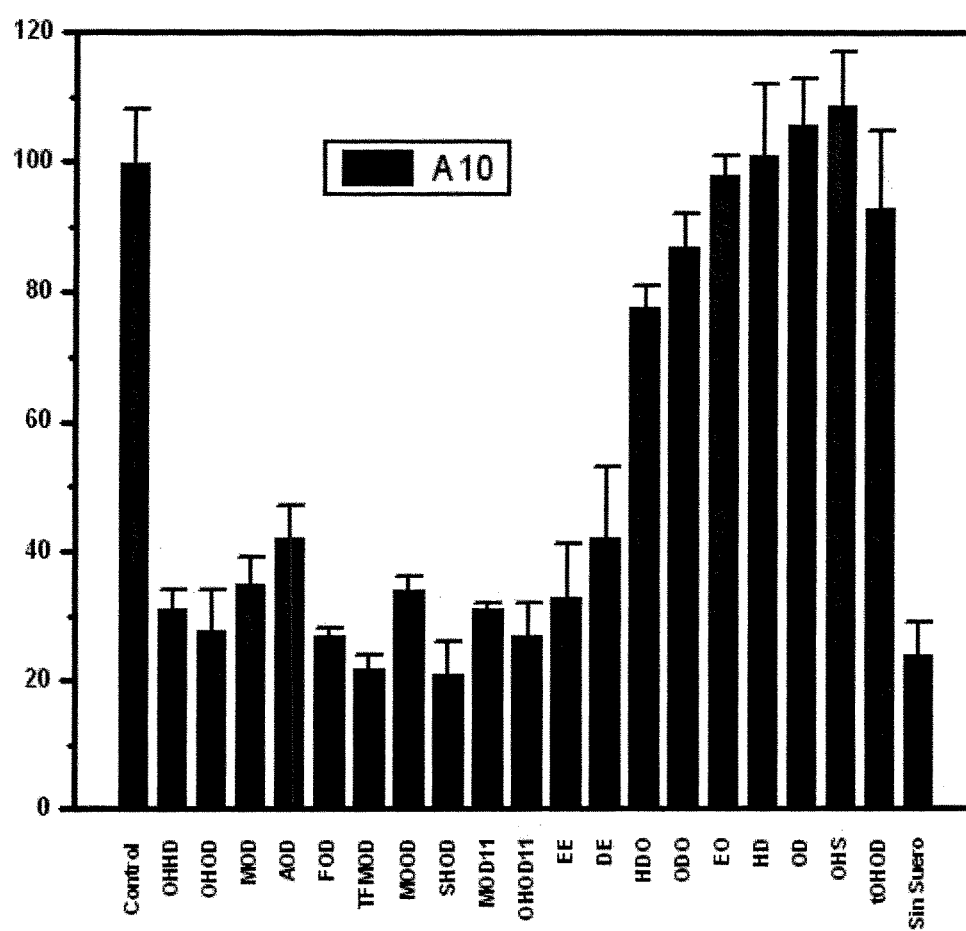


FIGURA 7

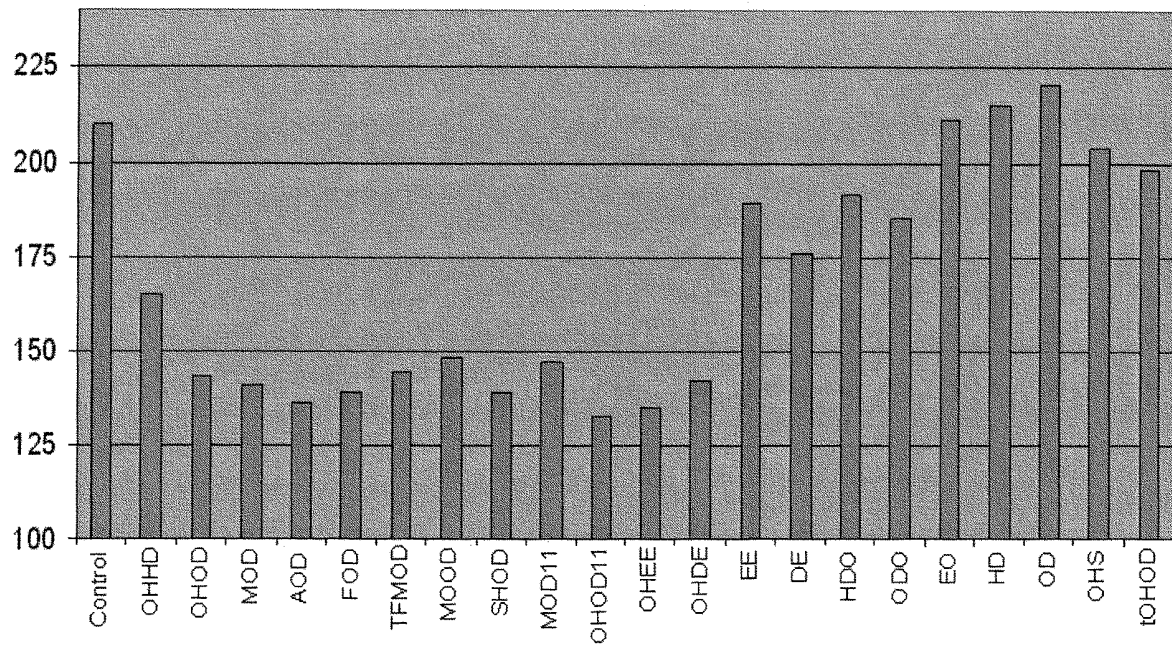


FIGURA 8

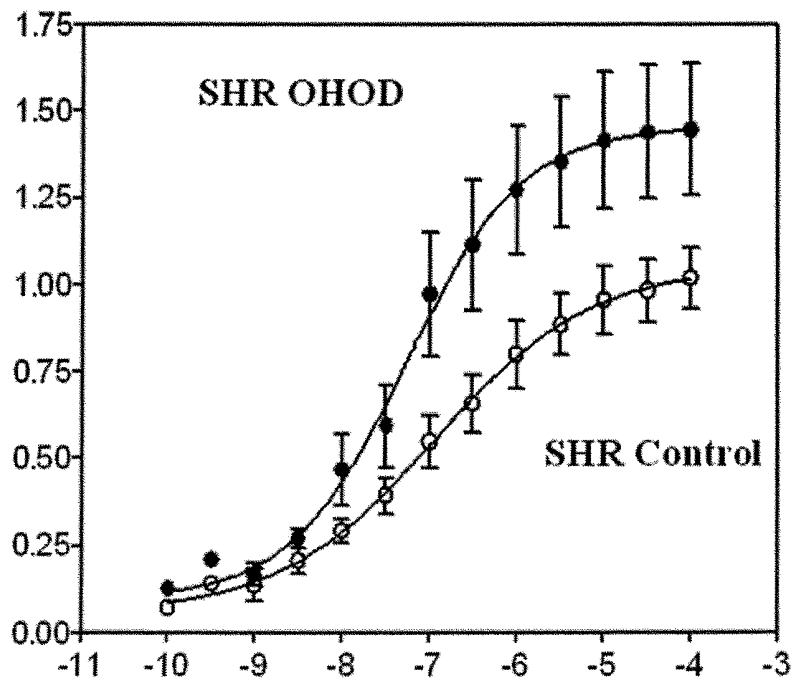


FIGURA 9

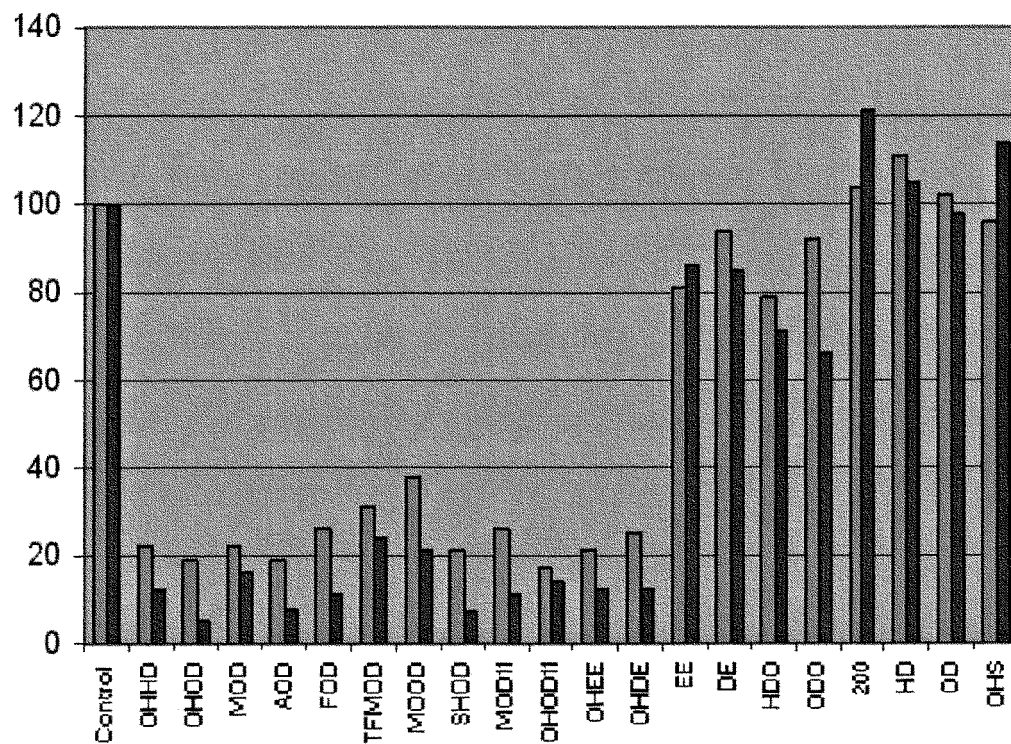


FIGURA 10

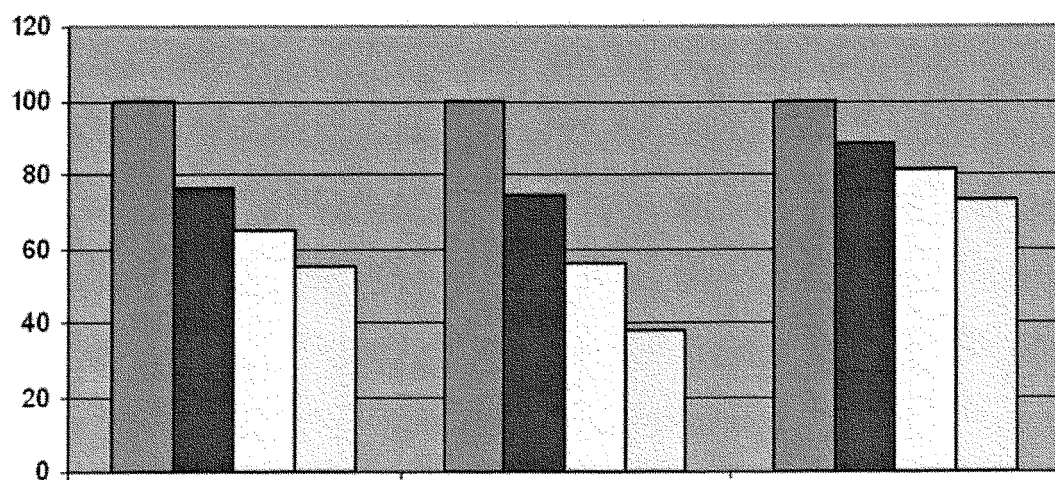


FIGURA 11

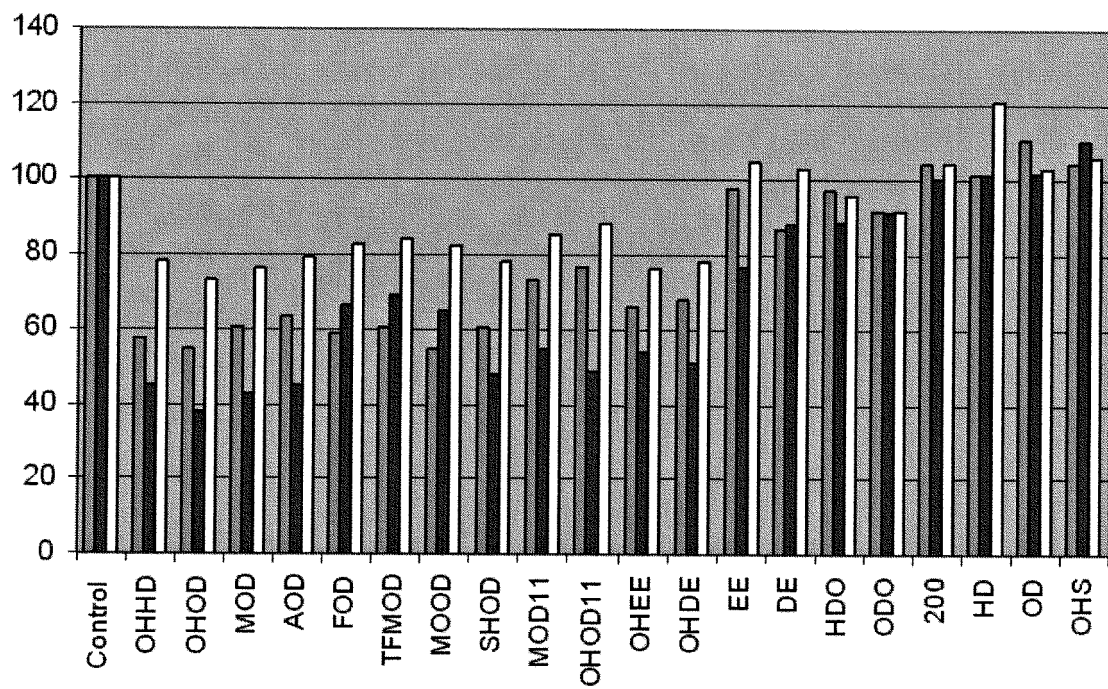


FIGURA 12

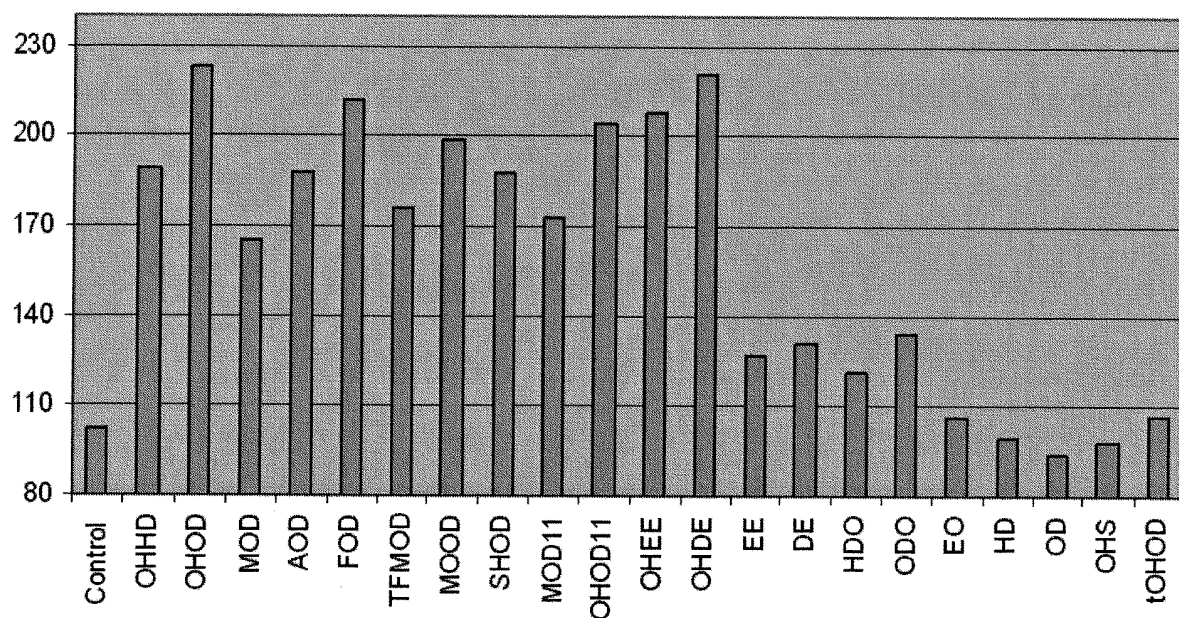


FIGURA 13

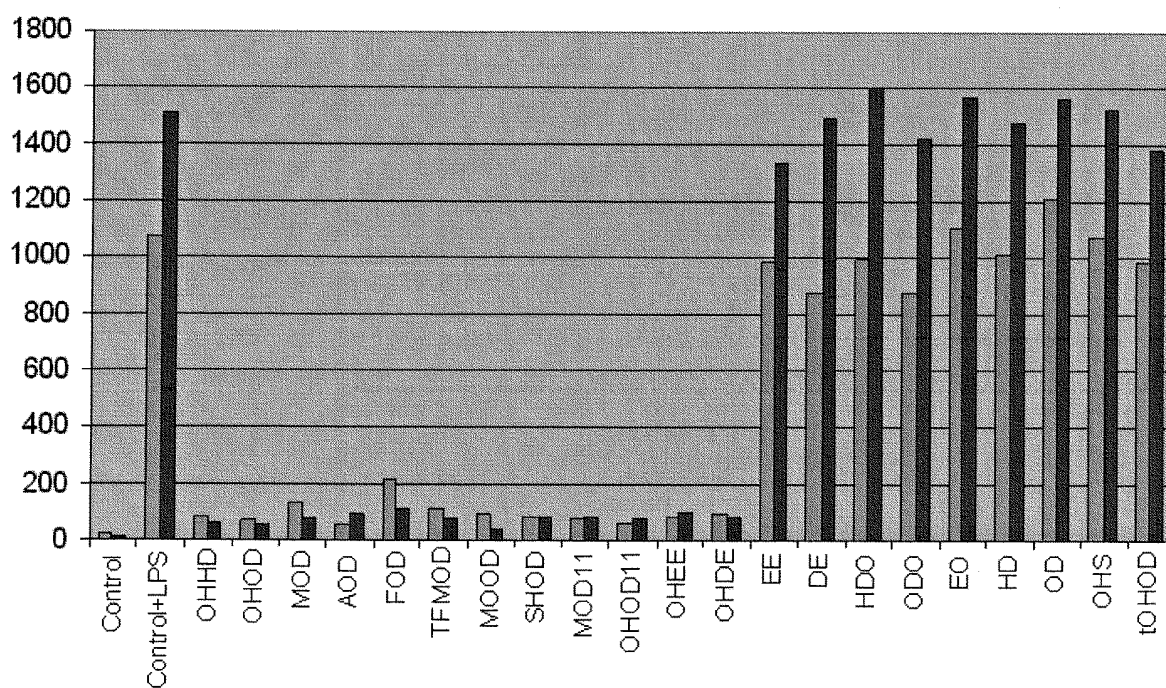


FIGURA 14

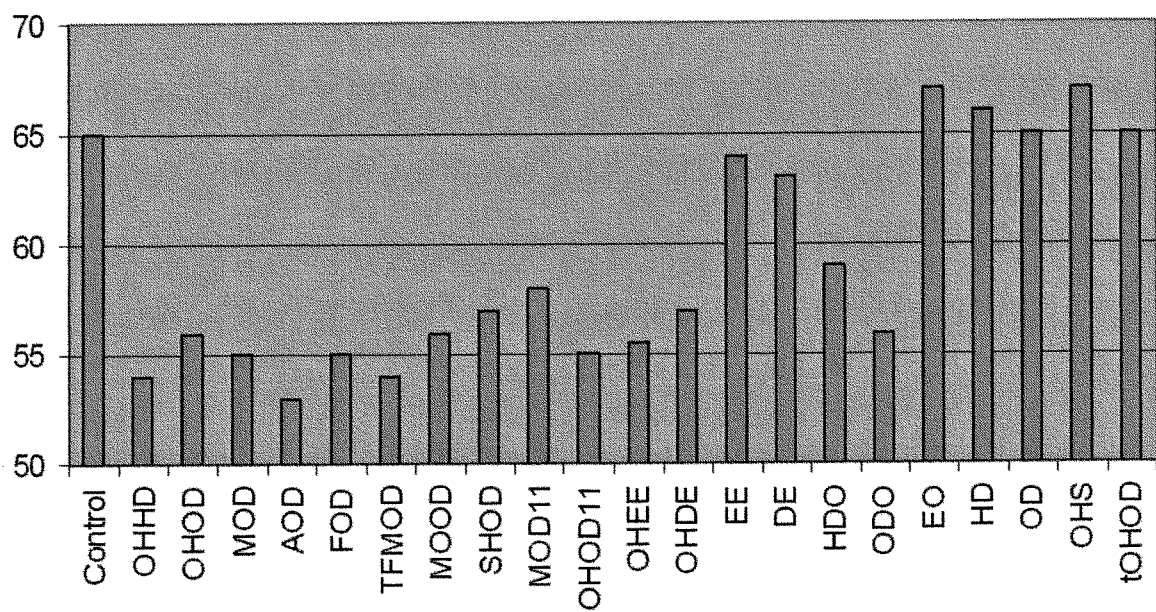
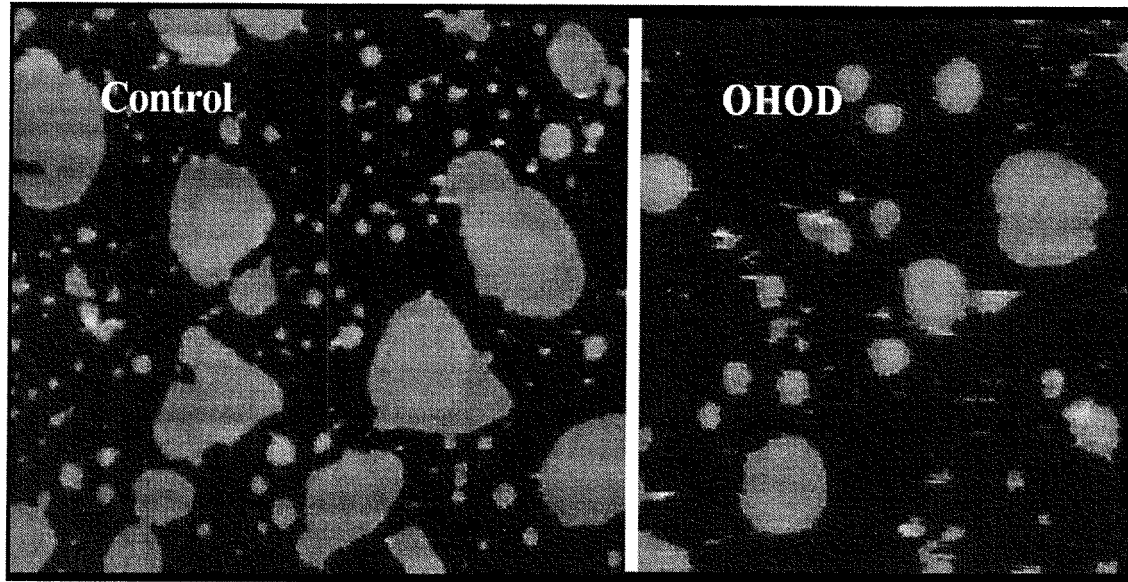


FIGURA 15

A



B

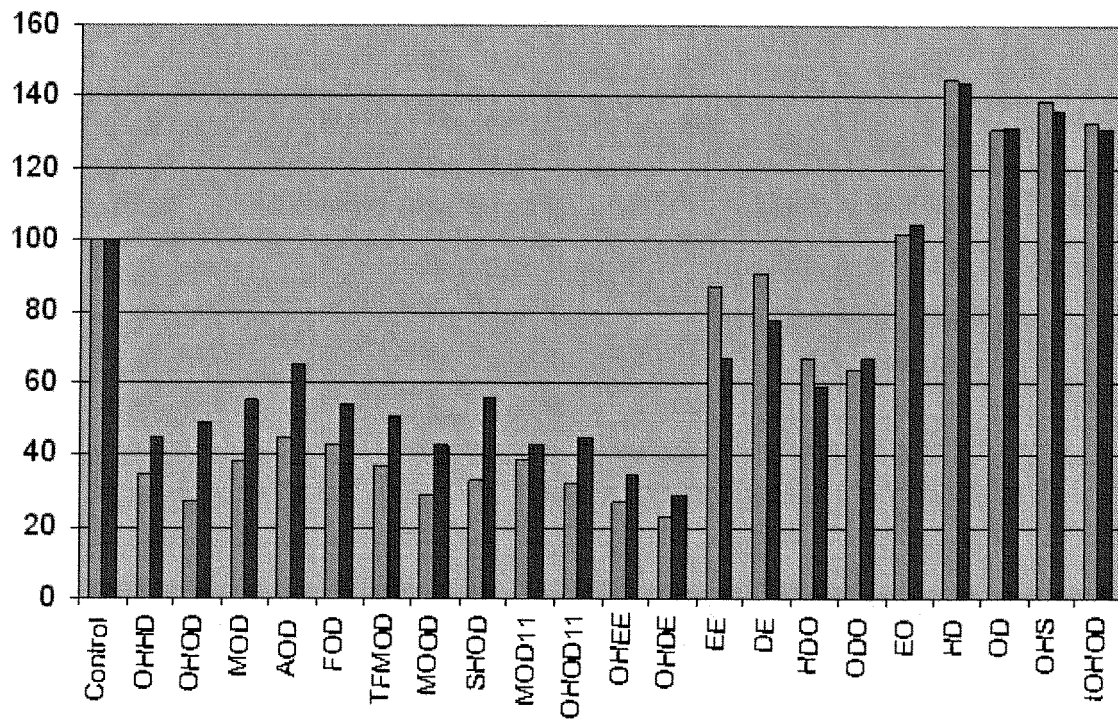
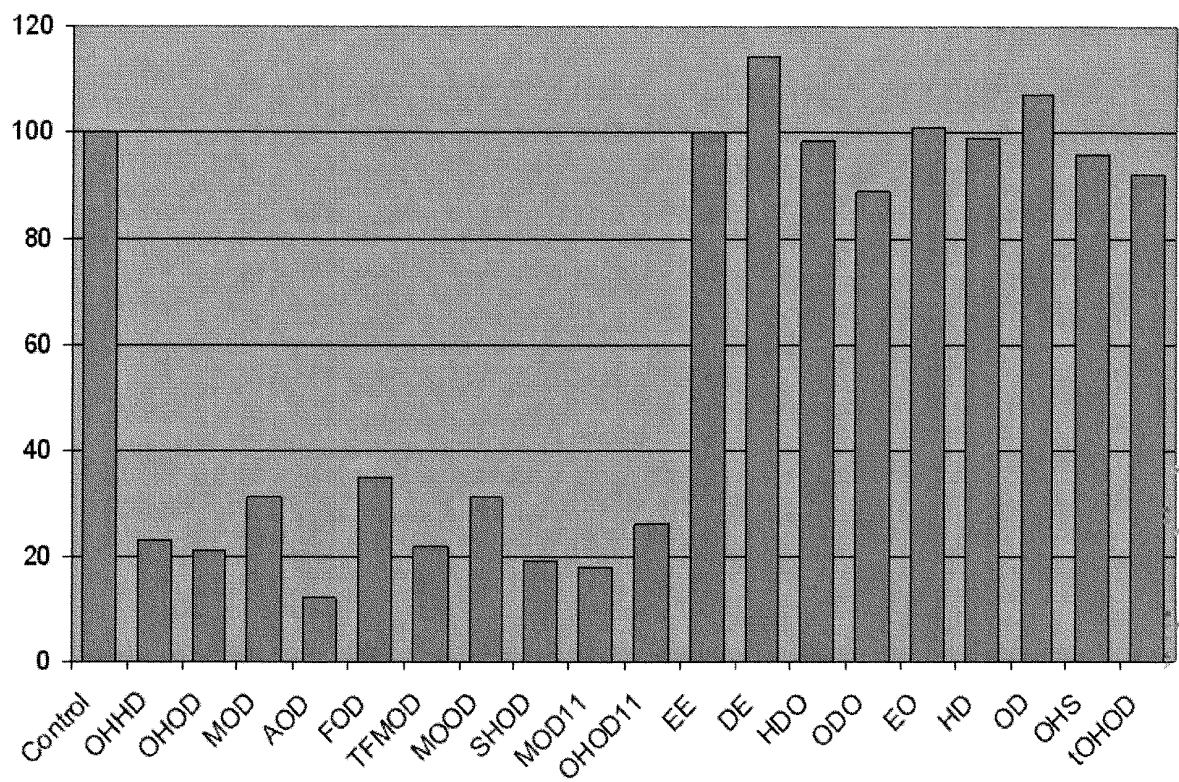


FIGURA 16





OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

⑪ ES 2 342 997

⑫ Nº de solicitud: 200803480

⑬ Fecha de presentación de la solicitud: 09.12.2008

⑭ Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑮ Int. Cl.: Ver hoja adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑯ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	Base de datos Registry [recuperado el 25.02.2010]. STN International, Columbus, Ohio (EEUU). Compuesto con CAS Registry Number RN 155056-28-3. Fecha de entrada en Registry 13-05-1994.	1-4, 6
X	WO 2003030891 A1 (UNIVERSITAT DE LES ILLES BALEARS) 17.04.2003, Todo el documento. ESCRIBA, P.V. Membrane-lipid therapy: a new approach in molecular medicine. Trends in Molecular Medicine. 2006, Vol. 12, Nº 1, páginas 34-43, ISSN 1471-4914. Todo el documento.	3-5, 8-10
X	WO 2005041691 A1 (UNIVERSITAT DE LES ILLES BALEARS) 12.05.2005, Todo el documento.	3-5, 8,9
A	ALEMANY, R. y col. 2-Hydroxyoleic Acid. Hypertension. 2004, Vol. 43, páginas 249-254, ISSN 1524-4563. Todo el documento.	3-5
A	ESCRIBA, P.V. Membrane-lipid therapy: a new approach in molecular medicine. Trends in Molecular Medicine. 2006, Vol. 12, Nº 1, páginas 34-43, ISSN 1471-4914. Todo el documento.	1-15

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

07.07.2010

Examinador

E. Albarrán Gómez

Página

1/4

CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

A61K 31/201 (2006.01)

A61K 31/185 (2006.01)

A23L 1/30 (2006.01)

A61Q 19/00 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 9/10 (2006.01)

A61P 9/12 (2006.01)

A61P 3/04 (2006.01)

A61P 17/00 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

A61P 31/00 (2006.01)

A61P 3/00 (2006.01)

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

A61K, A23L, A61Q, A61P

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

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

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 07.07.2010

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones	7, 10-15	SÍ
	Reivindicaciones	1-6, 8, 9	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones	7, 11-15	SÍ
	Reivindicaciones	1-6, 8, 9, 10	NO

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

Base de la Opinión:

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

1. Documentos considerados:

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

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	Base de datos Registry	13-05-1994
D02	WO 2003030891 A1	17-04-2003
D03	WO 2005041691 A1	12-05-2005
D04	Hipertensión, Vol. 43.	2004
D05	Trends in Molecular Medicine	2006

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

La presente invención se refiere a alfa-derivados de ácidos grasos cis-monoinsaturados de fórmula I, sus derivados farmacéuticamente aceptables y su uso en la prevención y/o tratamiento de cualquier enfermedad cuya etiología común está relacionada con alteraciones estructurales y/o funcionales de los lípidos localizados en la membrana celular, tales como prevención y/o tratamiento del cáncer, patologías vasculares, patologías cutáneas, patologías neurodegenerativas, procesos inflamatorios, patologías infecciosas, patologías metabólicas como hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia, diabetes o síndrome metabólico,.

La referencia que constituye el documento D01 describe el compuesto alfa-F-cis-9-octadecenoico con RN 155056-28-3, introducido en la base de datos Registry el 13 de Mayo de 1994 , y que corresponde al compuesto designado en la presente solicitud como FOD.

En consecuencia las reivindicaciones 1 a 4 y 6 carecen de novedad (Art. 6.1. LP11/1986).

El documento D02 se refiere al uso en el tratamiento de cáncer, hipertensión, obesidad, de compuestos englobados en una fórmula general igual a la definida en la presente solicitud, en la que el grupo ácido no está sustituido y los sustituyentes del carbono en posición alfa en relación al grupo ácido, pueden ser H, OH, NH₂ o CH₃; entre los que se encuentran los ácidos oleico, hidroxioleico, aminooleico y metiloleico.

El documento D03 tiene por objeto el uso de los mismos compuestos que el documento D04 en la elaboración de alimentos, aditivos alimenticios... para la prevención y control de enfermedades cardiovasculares y obesidad.

El documento D04 divulga la actividad hipotensiva del ácido 2-hidroxioleico que corresponde al compuesto alfa-hidroxi-cis-9-octadecenoico, designado en la solicitud como OHOD. Los autores sugieren que este compuesto puede representar el primer miembro de una nueva familia de agentes antihipertensivos.

D02 y D03 hacen referencia a que los compuestos reivindicados tienen la actividad de modular la estructura de los lípidos de membrana y de regular la proliferación celular, y aparecen excluidos en algunas reivindicaciones en la presente solicitud en forma de disclaimer.

Por lo tanto, se considera que las reivindicaciones 3 a 5, 8 a 10 carecen de novedad y actividad inventiva (Art. 6.1. y 8.1 LP11/1986).

Se considera que tienen novedad e implican actividad inventiva las reivindicaciones 7, 11 a 15 (Art. 6.1. y 8.1 LP11/1986).