



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 289 137**

51 Int. Cl.:
A61K 31/575 (2006.01)
C07J 41/00 (2006.01)
C07J 9/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **02761957 .6**
86 Fecha de presentación : **15.04.2002**
87 Número de publicación de la solicitud: **1379254**
87 Fecha de publicación de la solicitud: **14.01.2004**

54 Título: **Utilización de conjugados de ácido o ácidos grasos con un ácido biliar o una sal biliar.**

30 Prioridad: **17.04.2001 IL 142650**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.02.2008

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.02.2008

73 Titular/es: **Galmed International Ltd.**
35 Mannarino Road
B'Kara BKR 08, MT

72 Inventor/es: **Gilat, Tuvia**

74 Agente: **Ponti Sales, Adelaida**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

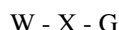
DESCRIPCIÓN

Utilización de conjugados de ácido o ácidos grasos con un ácido biliar o una sal biliar.

5 La presente invención se refiere a una nueva utilización de ciertos conjugados de ácido graso con un ácido biliar o una sal biliar.

A partir de la Patente de Israel IL-A-123.998 se conocen conjugados de ácido graso con un ácido biliar o una sal biliar [BAFAC I] de fórmula general I

10



15 en la que G es un radical de ácido biliar o sal biliar, que si se desea, está conjugado en la posición 24 con un aminoácido adecuado, W representa uno o dos radicales de ácidos grasos que tienen de 18 a 22 átomos de carbono y X representa un enlace NH entre dicho radical de ácido biliar o sal biliar y el ácido o ácidos grasos.

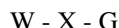
A partir de dicha descripción, se conoce la utilización de los compuestos de fórmula general I y de las composiciones farmacéuticas que comprenden a los mismos para disolver cálculos biliares de colesterol en la bilis, evitando la aparición o reaparición de dichos cálculos biliares, y para reducir o evitar la arteriosclerosis. También se conocen procedimientos para el tratamiento de dichas enfermedades.

20 La Patente US-A-3.856.953 da a conocer un procedimiento para el tratamiento del hígado graso que comprende la administración de ácido $3\alpha,7\alpha$ -dihidroxi- 12α -aciloxi- 5β -colánico o ácido 3α -hidroxi- $7\alpha,12\alpha$ -diaciloxi- 5β -colánico a un paciente, en el que el grupo aciloxi es de un hidrocarburo de ácido carboxílico de menos de 12 átomos de carbono. Los compuestos en los que el sustituyente aciloxi está sustituido por un sustituyente alcoxi también se indican que son activos para el tratamiento del hígado graso.

30 Se ha observado sorprendentemente que los BAFACS y las composiciones farmacéuticas que comprenden a los mismos se pueden utilizar para la fabricación de un medicamento destinado al tratamiento del hígado graso.

De este modo, en particular, la presente invención se refiere a la utilización de un conjugado de ácido graso con un ácido biliar o una sal biliar de fórmula general II

35



40 en la que G es un radical de ácido biliar o sal biliar, que, si se desea, está conjugado en la posición 24 con un aminoácido, W representa uno o dos radicales de ácidos grasos que tiene de 14 a 22 átomos de carbono y X representa un miembro de enlace adecuado o un enlace C=C directo entre dicho radical de ácido biliar o sal biliar y el ácido o ácidos grasos, o de una composición farmacéutica que comprende al mismo para la fabricación de un medicamento destinado al tratamiento del Hígado Graso, en la que dicho miembro de enlace adecuado X proporciona un enlace sólido que no está sustancialmente desconjugado durante el proceso de absorción del conjugado, con la condición de que dicho miembro de enlace X no sea un enlace éster.

45

El enlace debe ser un enlace sólido que no esté sustancialmente desconjugado por los enzimas intestinales y/o bacterianos durante el proceso de absorción. De este modo, un enlace éster no es adecuado ya que se desconjuga fácilmente. En particular, el enlace representa NH, pero también puede representar otros miembros de enlace adecuados, por ejemplo, S, P, O (éter), etc.

50

El enlace puede estar en la configuración alfa o beta y puede estar acoplado en varias posiciones de la molécula de ácido biliar, siendo preferidas las posiciones 3, 6, 7, 12 y 24.

55 En el compuesto de fórmula general II, el ácido graso se selecciona entre ácido behénflico, ácido araquidílico y ácido esteárico.

En una realización preferida, el compuesto de fórmula general II está representado por ácido 3β -araquidilamido- $7\alpha,12\alpha$ -dihidroxi- 5β -colan-24-oico.

60 El hígado graso es actualmente una de las enfermedades más habituales del hígado. Es debido a la acumulación excesiva de grasa en el hígado. Histológicamente se demuestra mediante la presencia de cantidades variables de micro y/o macro gotas de grasa vesicular en el tejido hepático. El hígado graso puede estar causado por fármacos, productos químicos, enfermedades, bacterias, etc., pero la principal causa es una ingesta alimenticia excesiva que conduce a la obesidad (principalmente truncal).

65

Debido a la creciente prevalencia del sobrepeso en sociedades opulentas, la prevalencia del hígado graso está en aumento. El hígado graso puede progresar hacia esteatohepatitis y cirrosis con la consiguiente morbilidad y mortalidad.

El mejor tratamiento para el hígado graso inducido por la dieta se fundamenta en la pérdida de peso. Sin embargo, tal como se sabe esto raramente se consigue.

Actualmente se ha descubierto que los BAFACs II pueden reducir y evitar el hígado graso. Esto también se ha demostrado durante la continuación de la ingesta alimenticia excesiva en varias especies animales.

A continuación, se describirá la presente invención haciendo referencia a los siguientes Ejemplos y Figuras sin limitarse a los mismos.

En dichos Ejemplos la “dieta regular” utilizada tenía la siguiente composición:

Carbohidratos 50%, Proteína 21 %, Grasa 4% con mineral, fibra y suplementos vitamínicos (fabricados por Koffolk, Petach Tiqwa, Israel).

La figura 1 muestra la proporción de lípido/proteína en el hígado de ratones C57JL endogámicos alimentados con una dieta elevada en grasas +/- BAFAC (150 mg/kg/día) durante cinco semanas.

Ejemplo 1

Procedimiento de examen histológico

La presencia de hígado graso fue evaluada por un patólogo desconocedor de los tratamientos, calificado muestras codificadas de manera ciega.

El sistema de calificación fue el siguiente:

0 - Sin hígado graso

1 - Hígado graso mínimo <5% de superficie de hígado afectada

2 - Hígado graso medio 5-<25% de superficie de hígado afectada

3 - Hígado graso destacado 25-50% de superficie de hígado afectada

4 - Hígado graso severo >50% de superficie de hígado afectada

1. Hámsters

Se utilizaron Hámsters machos dorados sirios (Anilab, Rehovot, Israel) de 4-6 años de edad que pesaban 90-110 g. Se alimentaron con una dieta litogénica (No 1) que consistía en su dieta regular complementada con colesterol 1%, ácido palmítico 1,2%, aceite de maíz 2% (p/p) (modificado de Ayyad y otros, Lípidos...) durante 10 semanas. A la mitad de los animales se les administró de forma similar además 150 mg/kg/día de ácido 3β-araquidilamido-7α,12α-dihidroxi-5β-colan-24-oico. El compuesto se administró suspendido en solución salina mediante sonda intragástrica. A los animales de control se les administró sólo solución salina. Después de 10 semanas, los animales de anestesiaron y se sacrificaron. Se extrajeron el hígado y otros órganos y se colocaron en formalina para el examen histológico.

2. Ratones

Se utilizaron ratones endogámicos machos C57 (Jackson Lab., Maine, USA) de 4-6 semanas de vida que pesaban 20-25 g. Se alimentaron con una dieta “Western” (George y otros, *Circulation* 2000, 102: 1822-27) que contenía Colesterol 1,5 mg/kg y Grasa 42%, Carbohidratos 43% y Proteínas 15% (en % de calorías). A la mitad se administraron además 150 mg/kg/día de ácido 3β-araquidilamido-7α,12α-dihidroxi-5β-colan-24-oico suspendido en solución salina mediante sonda intragástrica. A la otra mitad se les administró de forma similar sólo solución salina. Después de 4 semanas, los animales de anestesiaron y se sacrificaron. Se extrajeron el hígado y otros órganos y se colocaron en formalina antes del examen histológico.

El número de animales de cada grupo y los resultados histológicos se indican en la siguiente Tabla 1.

TABLA 1

Calificaciones del hígado graso de los animales de prueba

Animales	Dieta	Duración (semanas)	n	Control (calificación)						n	+BAFAC (calificaciones)					
				0	1	2	3	4	media		0	1	2	3	4	media
Hámsters, dorados sirios	Litogénica 1	10	7					7	4a	7	6		1			0,28
Ratones C57 J/L endogámicos	Western	4	10	1	3	6			1,5b	14	12	1			1	0,35

a- Grasa microvesicular

b- Grasa mezclada (micro y macrovesicular)

Los datos en dicha Tabla 1 muestran que los BAFACS reducen y/o evitan el hígado graso.

Ejemplo 2

Se utilizaron ratones endogámicos C57J/L de 4 semanas de vida y que pesaban aproximadamente 20 g (Jackson Lab. Maine, USA). Se alimentaron durante 5 semanas con una dieta litogénica con alto contenido en grasas que consistía en: colesterol 1%, ácido cólico 0,5%, tocino 10%, manteca 6%, ácido palmítico 1,2% y aceite de maíz 2% (p/p) añadido a la dieta regular. Además de la dieta, a los animales se les administró diariamente, mediante sonda, BAFAC (150 mg/kg) suspendido en solución salina o un volumen igual de solución salina sola. Los BAFACS eran conjugados de ácido cólico (en la posición 3) con Ácido Palmítico (C-16) o Ácido Araquídico (C-20) o Ácido Behénico (C-22) utilizando un enlace amida. Los controles (n = 5) recibieron solución salina, los animales de prueba recibieron el conjugado C-16 (n = 5), el conjugado C-20 (n = 5) o el conjugado C-22 (n = 3). Después de 5 semanas, tras ayuno durante toda la noche, los animales se anestesiaron utilizando quetamina, se extrajo el hígado, y los animales se sacrificaron mediante una sobredosis de quetamina. Se homogenizó una muestra de 0,5 g de hígado en 5 ml de solución salina tamponada. Los lípidos del hígado se extrajeron del homogenato mediante el método Folch utilizando cloroformo: metanol (2:1 vol/vol). Se extrajo medio mililitro del homogenato en 5 ml de la solución de Folch. Después de la evaporación del disolvente, los lípidos se pesaron y se reevaporaron varias veces hasta obtener un peso constante. Las proteínas se cuantificaron en otra parte alícuota del homogenato según el método de Bradford. (Bradford M.M., *Annal Biochem.* 1976, 72:248).

Se calculó la proporción de lípidos con respecto a proteínas (mg/mg). Los resultados para cada grupo se muestran como medias (+ Desviación estándar). Los valores de los grupos fueron:

Controles 7,9 +/- 2,32, BAFAC C-16 2,25 +/- 1,20, BAFAC C-20 1,44 +/- 1,18 y BAFAC C-22 3,00 +/- 1,08. Los resultados se ilustran en la figura 1.

Los datos muestran que los efectos reivindicados son ejercidos por diversos conjugados, algunos de ellos casi tan potentes como el conjugado C-20 utilizado en el ejemplo 1.

Referencias citadas en la descripción

Esta lista de referencias citadas por el solicitante es sólo para conveniencia del lector. No forma parte del documento de Patente Europea. Aunque se haya tenido un gran cuidado en recoger las referencias, no puede excluirse la presencia de errores u omisiones y por ello la EPO declina cualquier responsabilidad a este respecto.

Documentos de patentes citados en la descripción

- IL 123998 A [0002]
- US 3856953 A [0004]

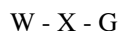
Bibliografía no correspondiente a patentes citada en la descripción

- GEORGE. *Circulation*, 2000, vol. 102, 1822-27 [0022]

REIVINDICACIONES

1. Utilización de un conjugado de ácido graso con un ácido biliar o una sal biliar de fórmula general II

5



10

en la que G es un radical de ácido biliar o sal biliar, que, si se desea, está conjugado en la posición 24 con un aminoácido, W representa uno o dos radicales de ácidos grasos que tienen de 14 a 22 átomos de carbono y X representa un miembro de enlace adecuado o un enlace C=C directo entre dicho radical de ácido biliar o sal biliar y el ácido o ácidos grasos, o de una composición farmacéutica que comprende al mismo para la fabricación de un medicamento destinado al tratamiento del hígado graso, en la que dicho miembro de enlace adecuado X proporciona un enlace sólido que no está sustancialmente desconjugado durante el proceso de absorción del conjugado, con la condición de que dicho miembro de enlace X no sea un enlace éster.

15

2. Utilización según la reivindicación 1, en la que en el compuesto de fórmula general II el miembro de enlace es NH.

20

3. Utilización según la reivindicación 1, en la que en el compuesto de fórmula general II el ácido graso se selecciona entre ácido behénfílico, ácido araquidílico y ácido esteárico.

4. Utilización según la reivindicación 1, en la que en el compuesto de fórmula general II es ácido 3 β -araquidilamido-7 α ,12 α -dihidroxi-5 β -colan-24-oico.

25

30

35

40

45

50

55

60

65

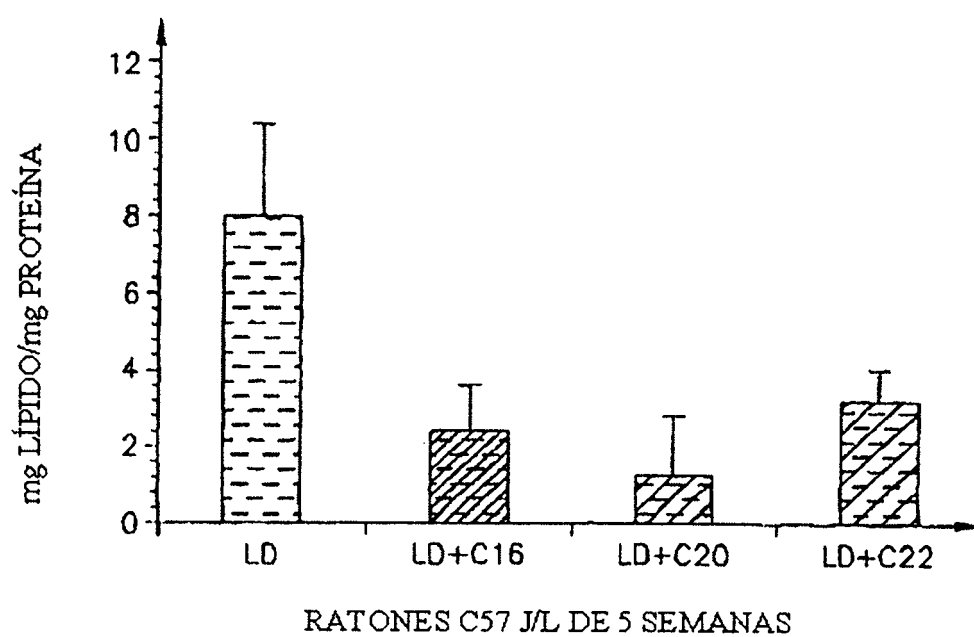


FIG. 1