



(11) **MX 2017006747 A**

(12)

## SOLICITUD de PATENTE

(43) Fecha de publicación: **18/01/2018** (51) Int. Cl: **A61K 31/165** (2006.01)  
(22) Fecha de presentación: **23/05/2017** (86) Número de solicitud PCT: **ES 2015/070848**  
(21) Número de solicitud: **2017006747** (87) Número de publicación PCT: **WO 2016/083646 (02/06/2016)**

(30) Prioridad(es): **24/11/2014 ES P201431739**

(71) Solicitante:  
**FUNDACIÓN PÚBLICA ANDALUZA PARA LA  
INVESTIGACIÓN DE MÁLAGA EN BIOMEDICINA Y  
SALUD (FIMABIS)  
Avenida Jorge Luis Borges, 15, B1.3 P1.3 E-29010  
Málaga ES**

(72) Inventor(es):  
**Fernando RODRÍGUEZ DE FONSECA  
Instituto De Investigación Biomédica De Málaga  
(IBIMA), Avenida Jorge Luis Borges, 15 B1. 3 Pl. 3  
Málaga E-29010 ES  
Francisco Javier PAVÓN MORÓN  
Antonia SERRANO CRIADO  
Juan Manuel DECARA DEL OLMO  
Jesús JOGLAR TAMARGO  
Pedro CLAPÉS SABORIT  
Rafael DE LA TORRE FORNELL  
Magí FERRE ALBALADEJO  
María Isabel COVAS PLANELLS  
Montserrat FITO COLOMER  
Bruno ALMEIDA COTRIM**

(74) Representante:  
**Angélica Guadalupe DOMÍNGUEZ CABELLO  
Av. Insurgentes Sur No. 1898, Piso 21 ALVARO  
OBREGON Ciudad de México 01030 MX**

(54) Título: **AMIDAS DE ACIDOS GRASOS PARA LA PREVENCION Y/O TRATAMIENTO DE LA ESTEATOHEPATITIS.**

(54) Title: **FATTY ACID AMIDES FOR THE PREVENTION AND/OR TREATMENT OF STEATOHEPATITIS.**

(57) Resumen

Uso de amidas de ácidos grasos con fenilalquilaminas y de una composición farmacéutica que comprende al menos uno de estos compuestos en la prevención y/o tratamiento del hígado graso o de una enfermedad o condición patológica causada por hígado graso, alcohólico o no alcohólico y, en particular, para la prevención y/o tratamiento de la esteatohepatitis alcohólica o esteatohepatitis no alcohólica (NASH).

(57) Abstract

The invention relates to the use of fatty acid amides with phenylalkylamines and a pharmaceutical composition comprising at least one of said compounds in the prevention and/or treatment of fatty liver or a pathological condition or disease caused by fatty liver, either alcoholic or non-alcoholic, and in particular, for the prevention and/or treatment of alcoholic steatohepatitis or non-alcoholic steatohepatitis (NASH).



presencia del principal factor único conocido que la desencadena: el consumo abusivo de alcohol. Por tanto diferenciamos las esteatohepatitis alcohólica y la no alcohólica (*non alcoholic steatohepatitis*, NASH por sus 5 siglas en inglés). Esta última es una enfermedad común del hígado. A menudo es "silenciosa", es decir, no presenta síntomas. La NASH se parece a las enfermedades del hígado causadas por el consumo de alcohol, pero se presenta en personas que beben poco o nada de alcohol.

10 La característica principal de la NASH es grasa en el hígado con inflamación y daño. La mayoría de las personas que padece NASH se siente bien. No saben que tienen un problema en el hígado. La NASH puede ser grave y desembocar en cirrosis. Con la cirrosis, el hígado queda 15 dañado para siempre, forma cicatrices y deja de funcionar correctamente.

La NASH afecta entre el 2 y el 5 % de las personas que viven en los Estados Unidos. Otro porcentaje, del 10 al 20%, de personas, tiene grasa en el hígado sin 20 presentar inflamación ni daño en el mismo. Esta afección médica se llama "hígado graso". No es normal tener grasa en el hígado. Sin embargo, tener grasa en el hígado probablemente no cause mucho daño, ni daño permanente, por sí sola. Con un análisis de sangre, un ultrasonido 25 (ecografía) del hígado o una prueba similar se puede

observar la presencia de grasa. Si los resultados del análisis de sangre, la ecografía u otras pruebas muestran la posibilidad de que haya grasa en el hígado, la enfermedad se llama "enfermedad de hígado graso no  
5 alcoholica" (non alcoholic fatty liver disease, NAFLD por sus siglas). Una biopsia del hígado detectará si alguien tiene NASH o NAFLD.

La NASH es cada vez más común. Esto puede deberse a la mayor prevalencia de obesidad entre la gente que vive  
10 en los Estados Unidos. En los últimos 10 años, se duplicó la cantidad de adultos que se han convertido en obesos y se triplicó en niños. La obesidad también contribuye a la diabetes y a un nivel alto de colesterol en la sangre, lo cual puede complicar la salud de alguien con NASH. En  
15 España, las cifras muestran prevalencias superiores al 20%, siendo especialmente prevalente en hombres, en los que se asocia a síndrome metabólico, y en niños con obesidad. En los niños esta prevalencia se ha visto incrementada por la creciente epidemia de sobrepeso en la infancia (Gelpi  
20 Méndez *et al.*, 2014. *Arch. Prev. Riesgos Labor.* 17(2), 84-90; Navarro-Jarabo *et al.*, 2013. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 28(9):1532-8; Caballería *et al.*, 2012. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* 24(9):1007-11)

Actualmente no hay un tratamiento específico para  
25 la NASH. Las recomendaciones más importantes para las

personas que padecen esta enfermedad son:

1. bajar de peso (si son obesas o tienen sobrepeso).
2. consumir una dieta balanceada y saludable.
- 5 3. aumentar la actividad física.
4. evitar el consumo de alcohol.
5. evitar el consumo de medicinas innecesarias.

Seguir estas recomendaciones prevenir el daño hepático inicial o bien revertirlo en los estadios más  
10 iniciales. También son útiles para otras afecciones  
médicas, como enfermedades del corazón, diabetes y  
colesterol alto. Las personas deben hacer un gran esfuerzo  
por mantener un peso corporal saludable. La pérdida de peso  
puede mejorar los resultados de las pruebas del hígado en  
15 personas con NASH. Bajar de peso puede incluso revertir la  
enfermedad en alguna medida. Los investigadores están  
tratando de averiguar cuántos kilogramos debe bajar una  
persona con NASH para mejorar el hígado. También desean  
saber si bajar de peso tiene efectos a largo plazo.

20 Las personas con NASH a menudo padecen de otras  
enfermedades, como diabetes, presión arterial alta o  
dislipemia (niveles de triglicéridos y/o colesterol  
superiores a lo normal). Estas afecciones médicas deben  
tratarse con medicinas y controlarse adecuadamente. Las  
25 personas no deben dejar de tratar otras afecciones

simplemente porque padecen NASH o tienen niveles altos de enzimas del hígado.

Hay dos tratamientos experimentales para personas con NASH:

5                   a) Antioxidantes, como vitamina E, selenio y betaína: Se desconoce si estas sustancias ayudan a tratar la enfermedad, pero los resultados de los estudios estarán disponibles en los próximos años.

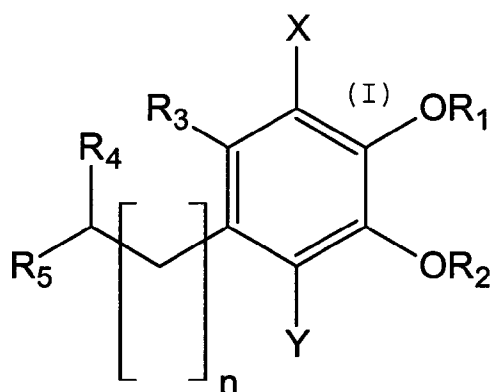
10                   b) Nuevos medicamentos para el tratamiento de la diabetes: éstas incluso se utilizan en personas sin diabetes. Ello se debe a que la mayoría de las personas con NASH tiene resistencia a la insulina. Esto significa que la insulina normalmente presente en la sangre no controla la glucosa y los ácidos grasos  
15 de manera eficaz. Estos nuevos medicamentos mejoran la sensibilidad del organismo a la insulina.

Es necesario, por tanto, desarrollar un tratamiento específico para el NASH.

#### **BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION**

20                   Un **primer aspecto** de la presente invención se refiere al uso de un compuesto de fórmula general (I) (también referido como el compuesto de la invención):

5



donde

X e Y pueden ser iguales o diferentes de forma  
 10 independiente y se seleccionan entre H, halógeno y metilo;

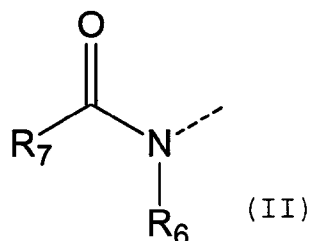
n es un número entero desde 1 a 4;

R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> pueden ser iguales o diferentes de forma  
 independiente y se seleccionan entre H y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> o  
 pueden estar unidos por un enlace simple entre los dos  
 15 átomos de oxígeno, formando un nuevo ciclo;

R<sub>3</sub> se selecciona entre H, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y  
 alquenoilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>;

R<sub>4</sub> se selecciona entre H, halógeno y alquilo C<sub>1</sub>-  
 C<sub>4</sub>;

20 R<sub>5</sub> es un compuesto de fórmula general (II):



25

donde:

R<sub>6</sub> se selecciona entre H y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>;

R<sub>7</sub> se selecciona entre alquilo C<sub>8</sub>-C<sub>30</sub> y alquenoilo C<sub>8</sub>-C<sub>30</sub>;

5                   o cualquiera de sus sales, preferiblemente cualquier sal farmacéuticamente aceptable, ésteres, tautómeros, polimorfos, hidratos farmacéuticamente aceptables, o un isómero, profármacos, derivados, solvatos o análogos, o cualquiera de sus combinaciones, en la  
10 elaboración de un medicamento para la prevención, alivio y/o tratamiento del hígado graso o de una enfermedad o condición patológica causada por hígado graso. Alternativamente, se refiere al compuesto de la invención o cualquiera de sus sales, preferiblemente cualquier sal  
15 farmacéuticamente aceptable, ésteres, tautómeros, polimorfos, hidratos farmacéuticamente aceptables, o un isómero, profármacos, derivados, solvatos o análogos, o cualquiera de sus combinaciones, para su uso en la  
20 prevención, alivio y/o tratamiento del hígado graso o de una enfermedad o condición patológica causada por hígado graso.

En una modalidad preferida de este aspecto de la invención, la enfermedad causada por hígado graso es la esteatohepatitis.

25                   En una modalidad preferida de este aspecto de la



invención, el compuesto se usa en la elaboración de un medicamento para la prevención, alivio y/o tratamiento de una enfermedad causada por hígado graso no alcohólico (NAFLD), más preferiblemente esteatohepatitis no alcohólica (NASH).

En una modalidad preferida de este aspecto de la invención, X e Y pueden ser iguales o diferentes de forma independiente y se seleccionan entre H y CH<sub>3</sub>.

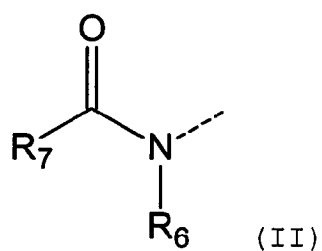
En una modalidad preferida de este aspecto de la invención, n es un número entero seleccionado entre 1 ó 3, más preferiblemente 1.

En otra modalidad preferida de este aspecto de la invención, R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> pueden ser iguales o diferentes de forma independiente y se seleccionan entre H y CH<sub>3</sub> o pueden estar unidos por un enlace simple entre los dos átomos de oxígeno, formando un nuevo ciclo.

En otra modalidad preferida de este aspecto de la invención R<sub>3</sub> se selecciona entre H y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>, y más preferiblemente es H.

En otra modalidad preferida de este aspecto de invención, R<sub>4</sub> se selecciona entre H y CH<sub>3</sub>, y más preferiblemente es CH<sub>3</sub>.

En otra modalidad preferida de este aspecto de la invención, R<sub>5</sub> es un compuesto de fórmula (II):

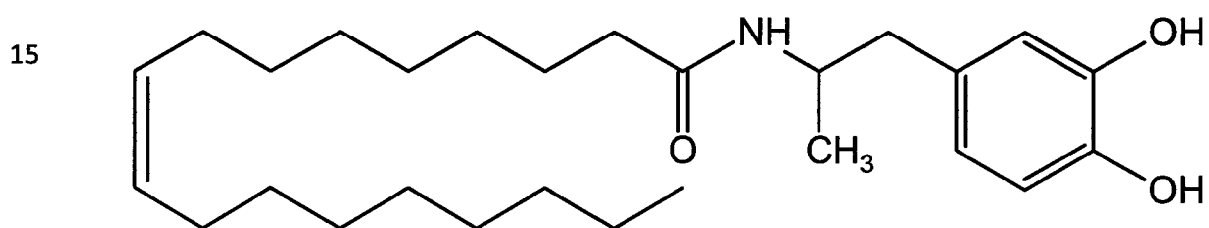


5

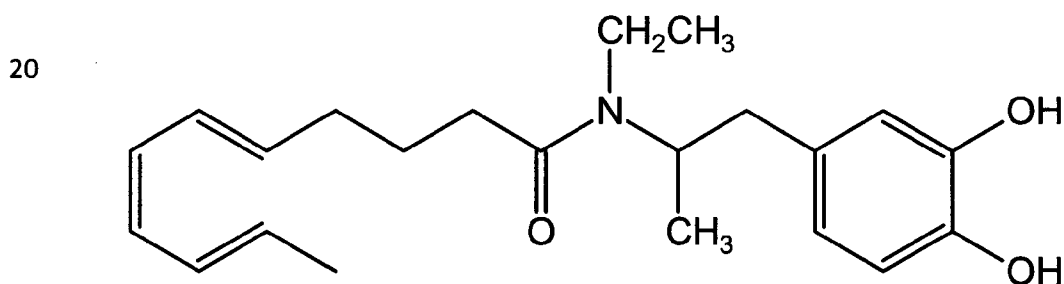
donde  $R_6$  se selecciona entre H y  $CH_3$  y  $R_7$  es un grupo alquenilo  $C_{15}-C_{25}$ .

En otra modalidad preferida de este aspecto de la invención,  $R_7$  tiene un número de insaturaciones entre 1 y 6, más preferiblemente entre 1 y 4.

En otra modalidad preferida de la invención, el compuesto de fórmula general (I) se refiere a un compuesto que se selecciona del siguiente grupo:

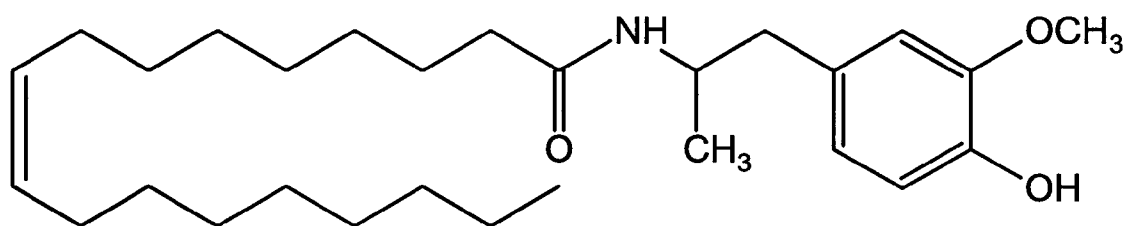


Fórmula (III)



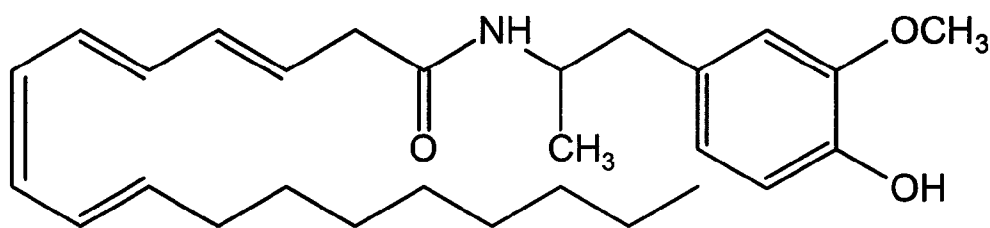
Fórmula (IV)

25



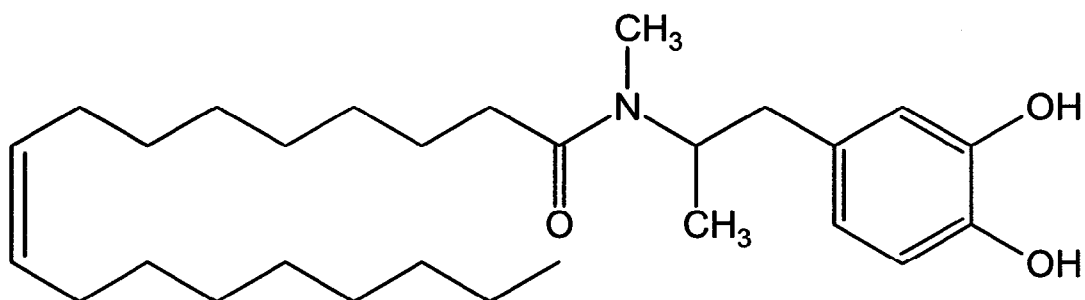
5

Fórmula (V)



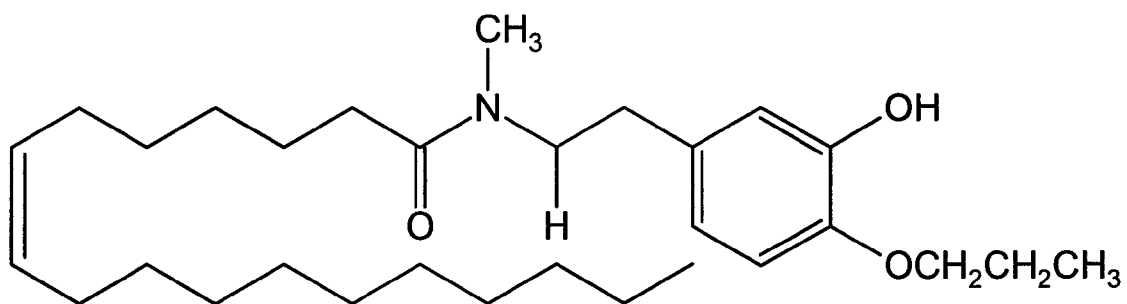
10

Fórmula (VI)



15

Fórmula (VII)

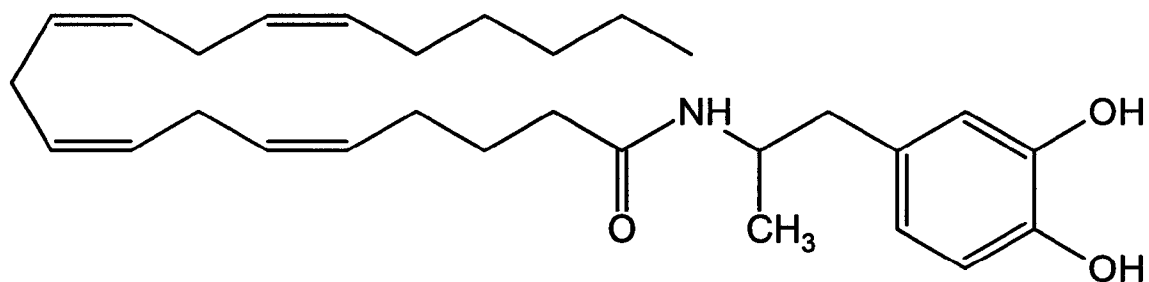


20

Fórmula (VIII)

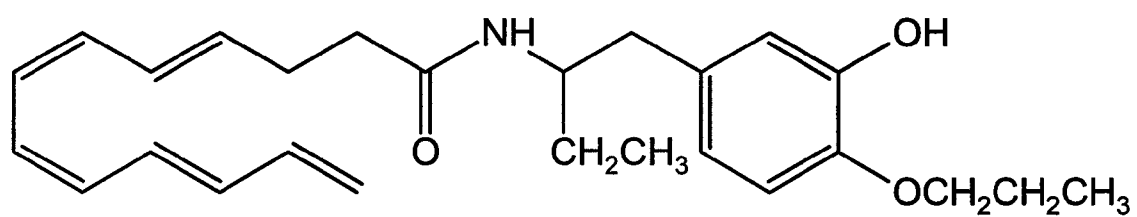
25

5



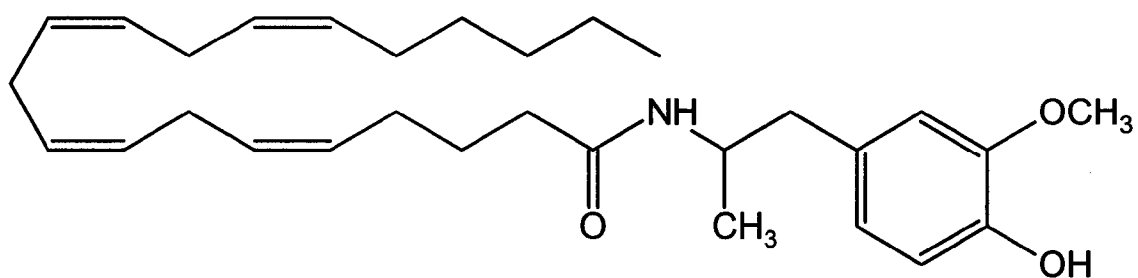
Fórmula (IX)

10



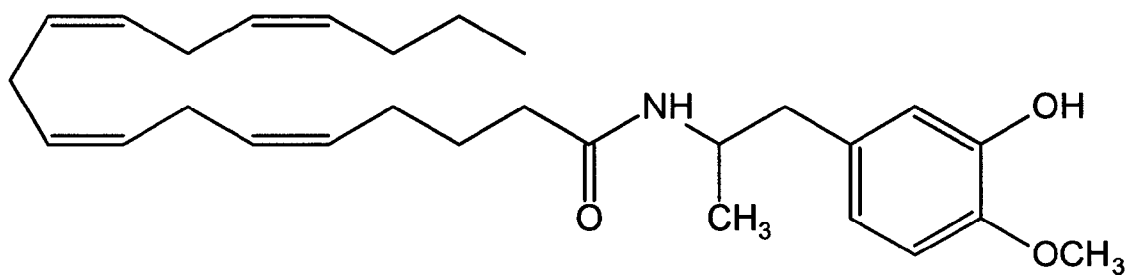
Fórmula (X)

15



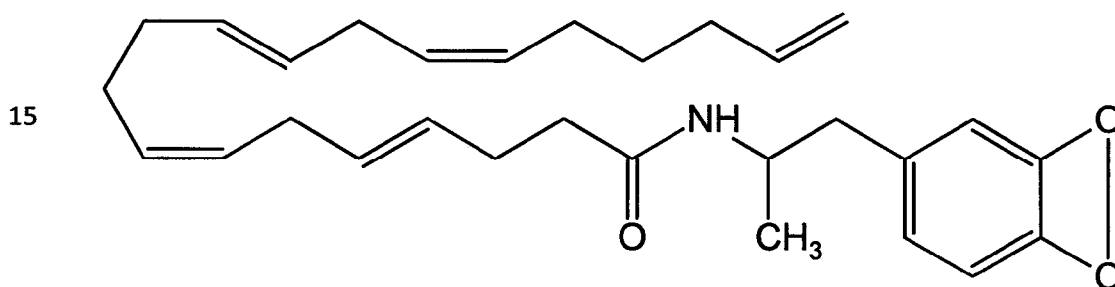
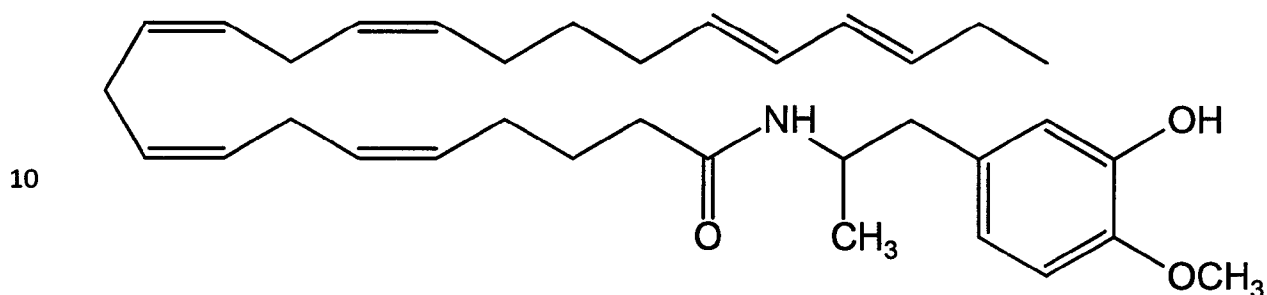
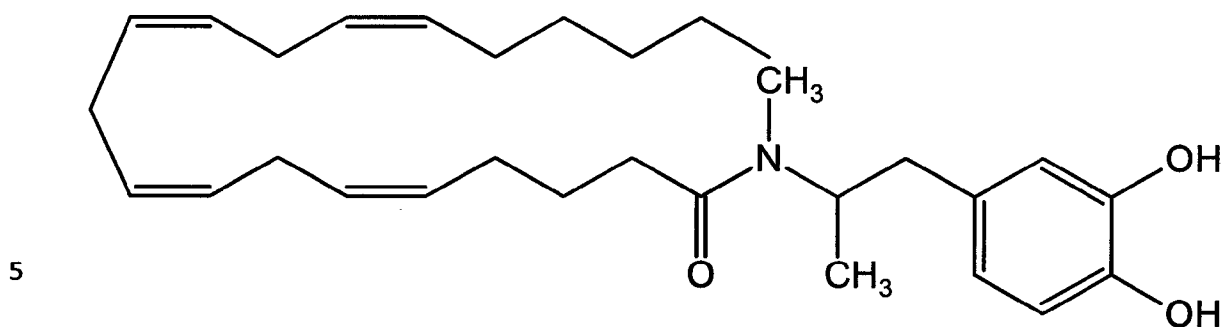
Fórmula (XI)

20



Fórmula (XII)

25



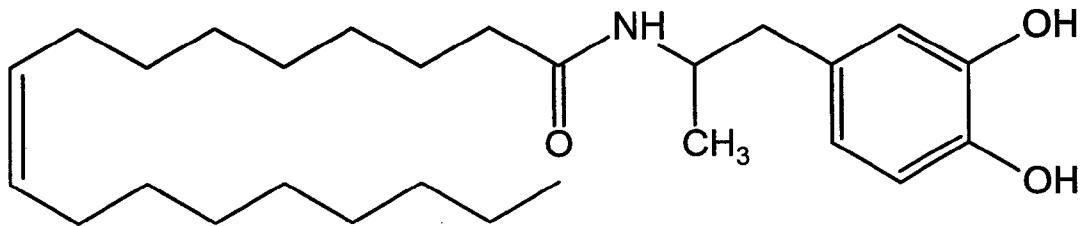
20

o cualquiera de sus sales, preferiblemente una sal farmacéuticamente aceptable, ésteres, tautómeros, polimorfos, hidratos farmacéuticamente aceptables, o un isómero, profármacos, derivados, solvatos o análogos, o  
25 cualquiera de sus combinaciones, o cualquiera de sus

combinaciones.

En una modalidad preferida de este aspecto de la invención, el compuesto es el *N*-(1-(3,4-dihidroxifenil)propan-2-il) oleamida (OLHHA).

5



Fórmula (III)

10

Un **segundo aspecto** de la invención se refiere al uso de una composición farmacéutica que comprenden al menos un compuesto de la invención, o un tautómero, una sal farmacéuticamente aceptable, un derivado o un profármaco del mismo, en la elaboración de un medicamento para la prevención, alivio y/o tratamiento de una enfermedad causada por hígado graso. Alternativamente, se refiere una composición farmacéutica que comprenden al menos un compuesto de la invención o cualquiera de sus sales, preferiblemente cualquier sal farmacéuticamente aceptable, ésteres, tautómeros, polimorfos, hidratos farmacéuticamente aceptables, o un isómero, profármacos, derivados, solvatos o análogos, o cualquiera de sus combinaciones, para su uso para la prevención, alivio y/o tratamiento de una enfermedad causada por hígado graso. En una modalidad preferida de este aspecto, la composición de la invención

25

además comprende un transportador o *carrier* farmacéuticamente aceptable, un excipiente y/o un vehículo farmacéuticamente aceptable.

En una modalidad preferida de este aspecto de la  
5 invención la enfermedad causada por hígado graso es la esteatohepatitis.

En otra modalidad preferida de este aspecto de la invención, la composición farmacéutica de la invención se usa la elaboración de un medicamento para la prevención,  
10 alivio y/o tratamiento de una enfermedad causada por hígado graso no alcohólico (NAFLD), preferiblemente esteatohepatitis no alcohólica (NASH).

En otra modalidad preferida de este aspecto de la invención, la composición farmacéutica de la invención se  
15 usa para la prevención, alivio o tratamiento de una enfermedad causada por hígado graso alcohólico (AFLD; *Alcoholic Fatty Liver Disease*), preferiblemente esteatohepatitis alcohólica (ASH; *alcoholic steatohepatitis*).

20 En otra modalidad preferida, la composición farmacéutica además comprende otro principio activo.

Un **tercer aspecto** de la invención se refiere a una composición alimentaria o bien una composición nutracéutica o bien una composición del tipo "*medical*  
25 *food*", de ahora en adelante composición alimentaria de la

invención, que comprende al menos uno de los compuestos de fórmula (I).

Un **cuarto aspecto** de la invención se refiere al uso de la composición alimentaria de la invención para la  
5 prevención, alivio o tratamiento del hígado graso o de una enfermedad o condición patológica causada por hígado graso, preferiblemente esteatohepatitis en mamíferos, y más preferiblemente en seres humanos. Alternativamente, se refiere al uso de la composición alimentaria de la  
10 invención, para la prevención y/o tratamiento del hígado graso o de una enfermedad o condición patológica causada por hígado graso, preferiblemente la esteatohepatitis.

En una modalidad preferida de este aspecto de la invención, la composición alimentaria de la invención se  
15 usa para la prevención, alivio o tratamiento de una enfermedad causada por hígado graso no alcohólico (NAFLD; *Non Alcoholic Fatty Liver Disease*), preferiblemente esteatohepatitis no alcohólica (NASH; *Non-alcoholic steatohepatitis*).

20 En otra modalidad preferida de este aspecto de la invención, la composición alimentaria de la invención se usa para la prevención, alivio o tratamiento de una enfermedad causada por hígado graso alcohólico (AFLD; *Alcoholic Fatty Liver Disease*), preferiblemente  
25 esteatohepatitis alcohólica (ASH; *alcoholic*



*steatohepatitis*).

Otro aspecto de la invención se refiere a un método para la prevención, alivio o tratamiento de un sujeto, preferiblemente humano, que padezca una enfermedad causada por hígado graso alcohólico (AFLD; *Alcoholic Fatty Liver Disease*), preferiblemente esteatohepatitis alcohólica (ASH; *alcoholic steatohepatitis*), o una enfermedad causada por hígado graso no alcohólico (NAFLD; *Non Alcoholic Fatty Liver Disease*), preferiblemente esteatohepatitis no alcohólica (NASH; *Non-alcoholic steatohepatitis*), que comprende la administración de la composición alimentaria de la invención o bien de la composición farmacéutica de la invención.

#### BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

**Figuras 1A y 1C.** Efectos del tratamiento crónico con OLHHA sobre la ganancia del peso corporal, **Figuras 1B y 1D** la ingesta en ratas Zucker.

**Figura 2A.** Efectos del tratamiento crónico con OLHHA sobre el contenido de grasa en hígado, y **Figura 2B** el nivel de triglicéridos en plasma en ratas Zucker.

**Figuras 3A, 3B y 3C.** Efectos del tratamiento crónico con OLHHA sobre el nivel de transaminasas en ratas obesas.

**Figuras 4A y 4B.** Efectos del tratamiento crónico con OLHHA sobre el nivel de citoquinas pro-inflamatorias en

ratas obesas.

**Figuras 5A y 5B.** Efectos del tratamiento crónico con OLHHA sobre el nivel de proteínas plasmáticas relacionadas con la función renal en ratas obesas.

5 **Figuras 6A, 6B y 6C.** Efectos del tratamiento crónico con OLHHA sobre la expresión génica de enzimas implicadas en el metabolismo de lípidos en el hígado de ratas Zucker.

**Figura 7A y 7B.** Efectos del tratamiento crónico  
10 con OLHHA sobre la expresión génica de *INSIG2* y *NAPE-PLD* en el hígado de ratas Zucker.

**Figura 8A y Figura 8B.** Cardiotoxicidad del OLHHA.

**Figuras 9A, 9B, 9C y 9D.** Evaluación histológica del efecto del tratamiento crónico con OLHHA sobre el  
15 hígado graso en ratas Zucker obesas. (**Figuras 9A, 9B**) Hematoxilina-eosina; (**Figuras 9C, 9D**) Rojo oleoso.

**Figuras 10A, 10B, 10C, 10D, 10E y 10F.** Efecto del tratamiento crónico con OLHHA sobre la expresión de Caspasa-3 en el hígado de ratas Zucker obesas. (**Figura 10A,**  
20 **10B, 10C**) Inmunohistoquímica y cuantificación de las células positivas para la Caspasa-3 activada; (**Figura 10D, 10E, 10F**) Inmunohistoquímica y cuantificación de las células positivas para la Caspasa-3 total.

**Figura 11.** Efecto del tratamiento crónico con  
25 OLHHA sobre la expresión génica de la proteína L-FABP en el

hígado de ratas Zucker (A).

**Figuras 12A, 12B, 12C y 12D.** Efecto del tratamiento crónico con OLHHA sobre los niveles de proteína de las enzimas implicadas en el metabolismo lipídico en el hígado de ratas Zucker obesas. **(Figura 12A)** FAS; **(Figura 12B)** HMG-CoAR; **(Figura 12C)** L-FABP; **(Figura 12D)** INSIG2.

#### DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Los resultados que se presentan en la invención muestran que el compuesto: *N*-(1-(3,4 dihidroxifenil)propan-2-il)oleamida (OLHHA), aminora el hígado graso en un modelo genético de obesidad tal como las ratas Zucker, lo que sugiere el papel hepato-protector de este compuesto. Las ratas Zucker obesas mostraron niveles altos de triglicéridos en suero e hígado graso, lo que se confirma como una elevación significativa de los triglicéridos circulantes y del contenido total de grasa del hígado en comparación con los animales delgados. Con la administración del compuesto de la presente invención, se generó una reducción tanto de los niveles de triglicéridos en el suero como de la acumulación de lípidos en el hígado de ratas Zucker obesas tratadas con OLHHA. Este efecto se ha asociado con cambios en la expresión de ARNm de los genes relacionados con el metabolismo de lípidos en el hígado. Es decir, OLHHA disminuyó la expresión de genes de enzimas lipogénicos, incluyendo la sintasa de ácidos grasos

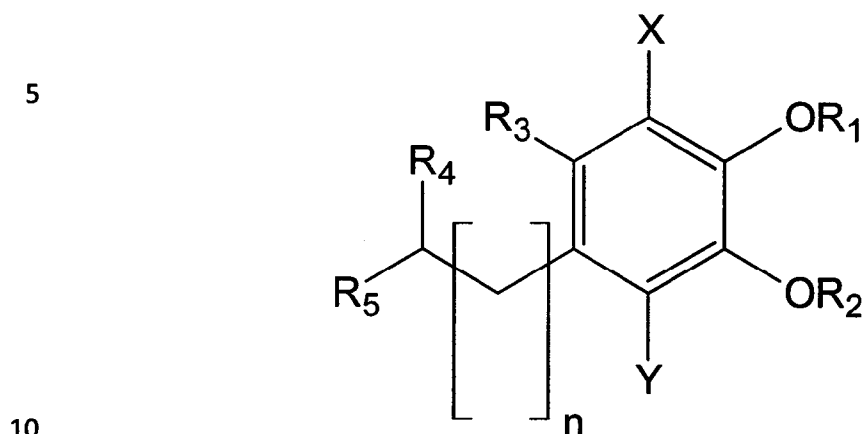
(FAS) y la reductasa 3-hidroxi-3-metil-glutaril-CoA (HMG-CoAR) y aumentó la expresión de genes de enzimas que promueve la oxidación de ácidos grasos, tales como acil-CoA oxidasa (ACOX). El descenso en el nivel de ARNm de la HMG-CoAR se relacionó con un aumento en la expresión génica del gen 2 inducido por la insulina (INSIG2), que está implicado en la regulación de la biosíntesis del colesterol. Finalmente, OLHHA produjo una disminución en la expresión del gen de la enzima pro-lipogénica relacionada con el sistema endocannabinoide *N*-acil fosfatidiletanolamina fosfolipasa D (la NAPE-PLD). También, OLHHA mostró un perfil farmacológico seguro porque no interactúa con el gen humano relacionado ether-à-go-go (hERG) de canales de potasio cardiaco y no tenía o tuvo efectos moderados sobre la actividad de las distintas isoformas del citocromo P450 hepático.

Es decir, la invención se refiere al uso de amidas de ácidos grasos conjugadas con fenilalquilaminas (anfetaminas, dopamina, etc.) en la elaboración de un medicamento para la prevención y/o tratamiento de una enfermedad causada por hígado graso, preferiblemente esteatohepatitis.

#### *USO MÉDICO DEL COMPUESTO DE LA INVENCIÓN*

Por lo tanto, un **primer aspecto** de la presente invención se refiere al uso de un compuesto de fórmula

general (I) (también referido como el compuesto de la invención):



(I)

donde

X e Y pueden ser iguales o diferentes de forma independiente y se seleccionan entre H, halógeno y metilo;

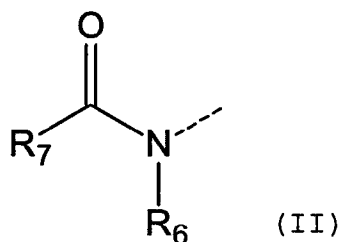
n es un número entero desde 1 a 4;

R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> pueden ser iguales o diferentes de forma independiente y se seleccionan entre H y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> o pueden estar unidos por un enlace simple entre los dos átomos de oxígeno, formando un nuevo ciclo;

R<sub>3</sub> se selecciona entre H, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y alquenoilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>;

R<sub>4</sub> se selecciona entre H, halógeno y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>;

R<sub>5</sub> es un compuesto de fórmula general (II):



5

donde:

R<sub>6</sub> se selecciona entre H y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>;

R<sub>7</sub> se selecciona entre alquilo C<sub>8</sub>-C<sub>30</sub> y alquenilo C<sub>8</sub>-C<sub>30</sub>;

10 o cualquiera de sus sales, preferiblemente cualquier sal farmacéuticamente aceptable, ésteres, tautómeros, polimorfos, hidratos farmacéuticamente aceptables, o un isómero, profármacos, derivados, solvatos o análogos, o cualquiera de sus combinaciones, en la  
 15 elaboración de un medicamento para la prevención, alivio y/o tratamiento del hígado graso o de una enfermedad o condición patológica causada por hígado graso.

En una modalidad preferida de este aspecto de la invención, la enfermedad causada por hígado graso es la  
 20 esteatohepatitis.

En una modalidad preferida de este aspecto de la invención, el compuesto se usa en la elaboración de un medicamento para la prevención, alivio y/o tratamiento de una enfermedad causada por hígado graso no alcohólico  
 25 (NAFLD), más preferiblemente esteatohepatitis no

alcohólica (NASH)

En la presente invención "enfermedad causada por hígado graso no alcohólico (NAFLD)" describe una amplia gama de condiciones causadas por una acumulación excesiva de grasa en forma de triglicéridos (esteatosis) en el hígado (histológicamente > 5% de los hepatocitos). Además del exceso de grasa (esteatohepatitis), un subgrupo de pacientes con NAFLD presenta daño e inflamación de los hepatocitos. Esta última condición es denominada "esteatohepatitis no alcohólica (NASH)", es virtualmente indistinguible histológicamente de la esteatohepatitis alcohólica (ASH). Mientras que la esteatosis simple que se observa en NAFLD no entraña un aumento de la morbilidad o mortalidad a corto plazo, la progresión de esta condición a NASH aumenta drásticamente el riesgo de cirrosis, fallo hepático, y carcinoma hepatocelular (HCC). La cirrosis debida a NASH es una razón cada vez más frecuente de trasplante hepático. Si bien la morbilidad y la mortalidad por causa hepática están muy aumentadas en los pacientes con NASH, la correlación es aún mayor con la morbilidad y mortalidad por patología cardiovascular.

El término "alquilo" se refiere, en la presente invención, a radicales de cadenas hidrocarbonadas, lineales o ramificadas, que tienen de 1 a 10 átomos de carbono, preferiblemente de 1 a 4, y que se unen al resto de la

molécula mediante un enlace sencillo, por ejemplo, metilo, etilo, *n*-propilo, *i*-propilo, *n*-butilo, *terc*-butilo, *sec*-butilo, *n*-pentilo, *n*-hexilo, etc. Los grupos alquilo pueden tener opcionalmente sustituidos por uno o más sustituyentes  
5 tales como halógeno, hidroxilo, alcoxilo, carboxilo, carbonilo, ciano, acilo, alcoxycarbonilo, amino, nitro, mercapto y alquiltio.

El término "alqueniilo" se refiere a radicales de cadenas hidrocarbonadas que contienen uno o más enlaces  
10 carbono-carbono dobles, por ejemplo, vinilo, 1-propeniilo, alilo, isopreniilo, 2-buteniilo, 1,3-butadieniilo, etc. Los radicales alqueniilos pueden estar opcionalmente sustituidos por uno o más sustituyentes tales como halo, hidroxilo, alcoxilo, carboxilo, ciano, carbonilo, acilo,  
15 alcoxycarbonilo, amino, nitro, mercapto y alquiltio.

El término "halógeno" se refiere a flúor, cloro, bromo o yodo.

En una modalidad preferida de este aspecto de la invención, X e Y pueden ser iguales o diferentes de forma  
20 independiente y se seleccionan entre H y CH<sub>3</sub>.

En una modalidad preferida de este aspecto de la invención, n es un número entero seleccionado entre 1 ó 3, más preferiblemente 1.

En otra modalidad preferida de este aspecto de la  
25 invención, R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> pueden ser iguales o diferentes de forma

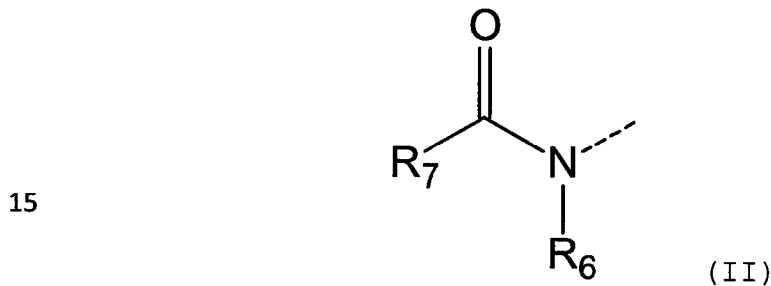


independiente y se seleccionan entre H y CH<sub>3</sub> o pueden estar unidos por un enlace simple entre los dos átomos de oxígeno, formando un nuevo ciclo.

En otra modalidad preferida de este aspecto de la invención R<sub>3</sub> se selecciona entre H y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>, y más preferiblemente es H.

En otra modalidad preferida de este aspecto de invención, R<sub>4</sub> se selecciona entre H y CH<sub>3</sub>, y más preferiblemente es CH<sub>3</sub>.

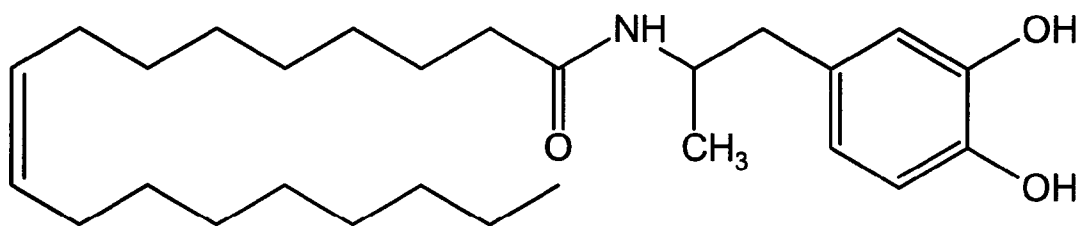
En otra modalidad preferida de este aspecto de la invención, R<sub>5</sub> es un compuesto de fórmula (II):



donde R<sub>6</sub> se selecciona entre H y CH<sub>3</sub> y R<sub>7</sub> es un grupo alquenilo C<sub>15</sub>-C<sub>25</sub>.

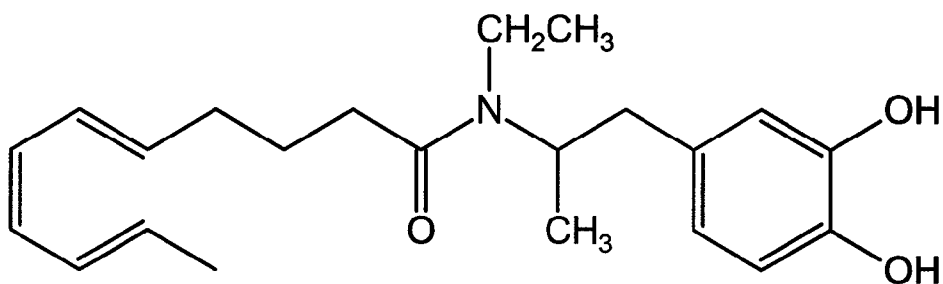
En otra modalidad preferida de este aspecto de la invención, R<sub>7</sub> tiene un número de insaturaciones entre 1 y 6, más preferiblemente entre 1 y 4.

En otra modalidad preferida de la invención, el compuesto de fórmula general (I) se refiere a un compuesto que se selecciona del siguiente grupo:



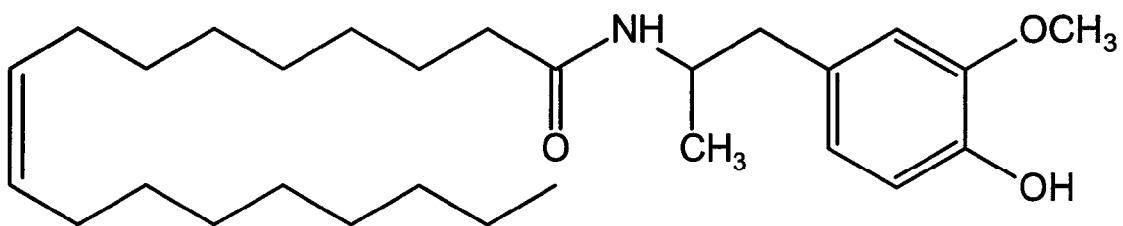
5

Fórmula (III)



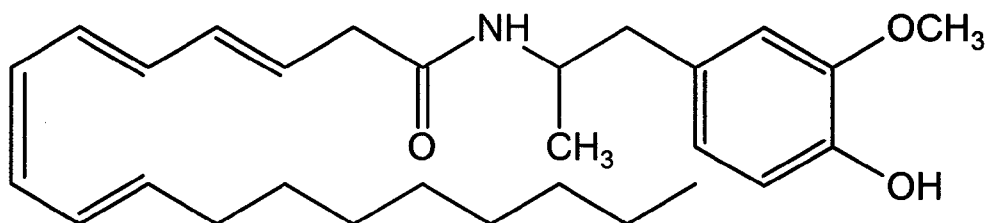
10

Fórmula (IV)



15

Fórmula (V)

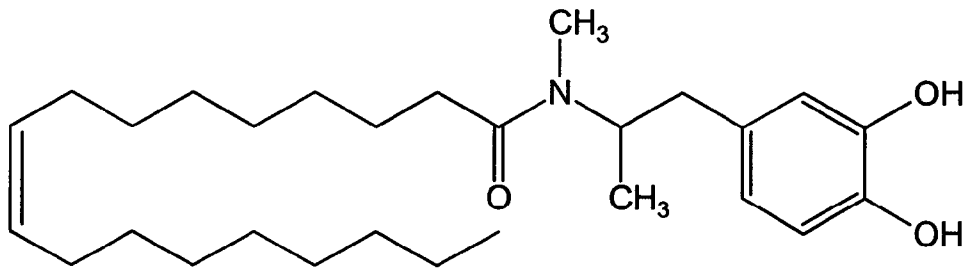


20

Fórmula (VI)

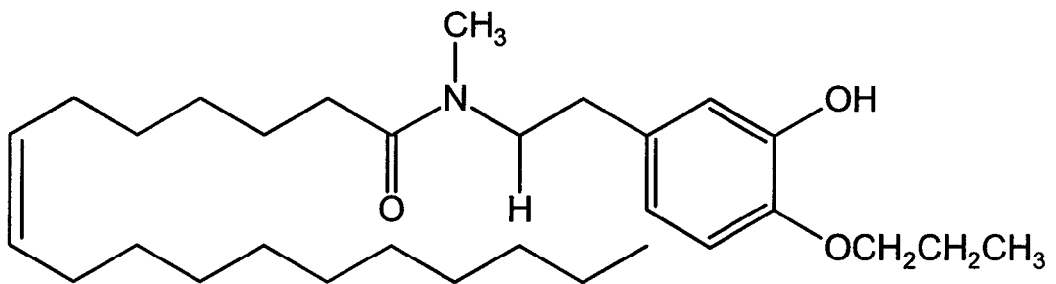
25

5



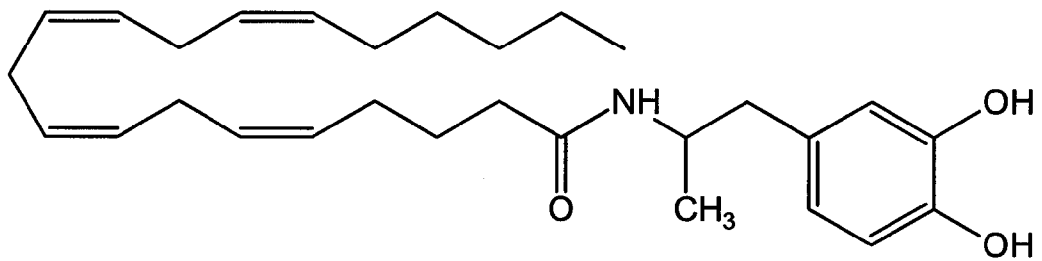
Fórmula (VII)

10



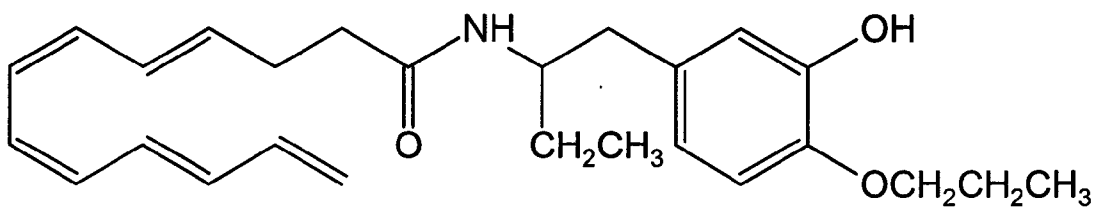
Fórmula (VIII)

15



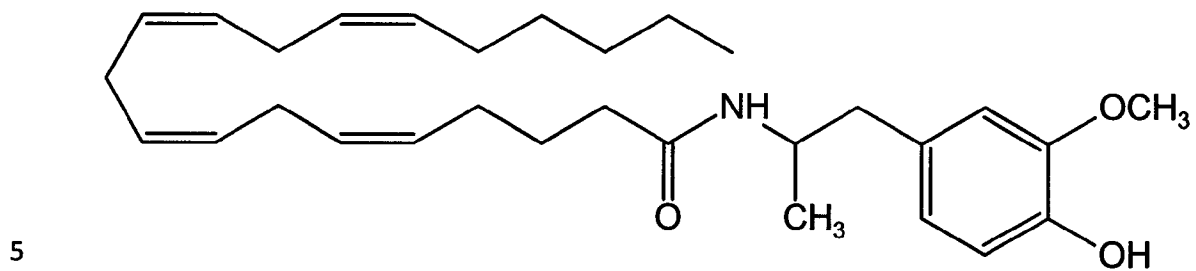
Fórmula (IX)

20

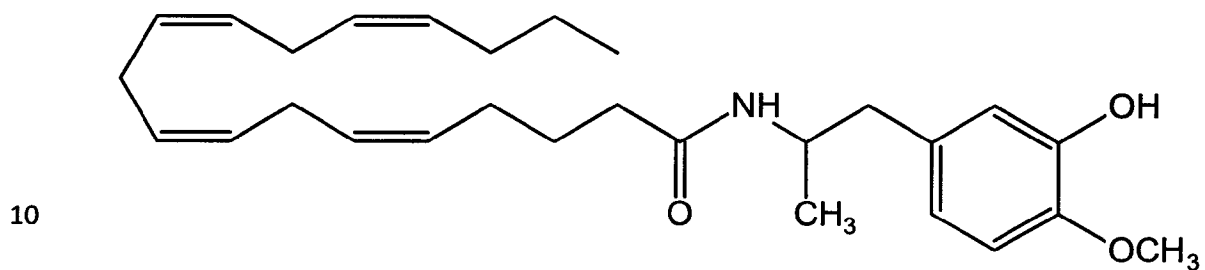


Fórmula (X)

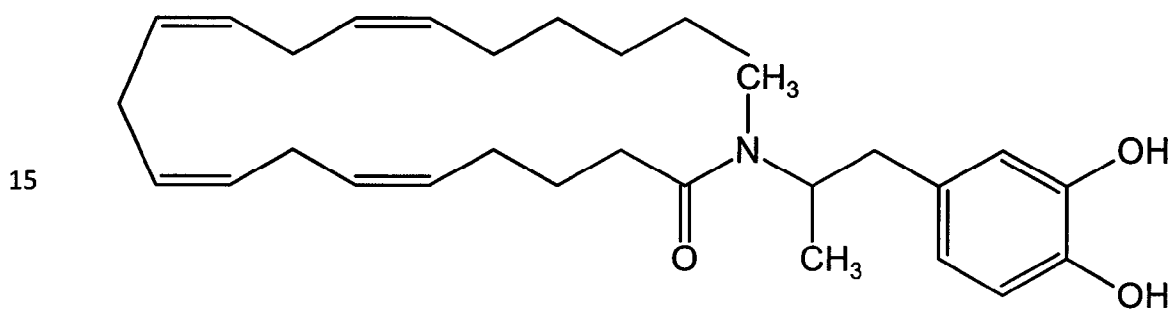
25



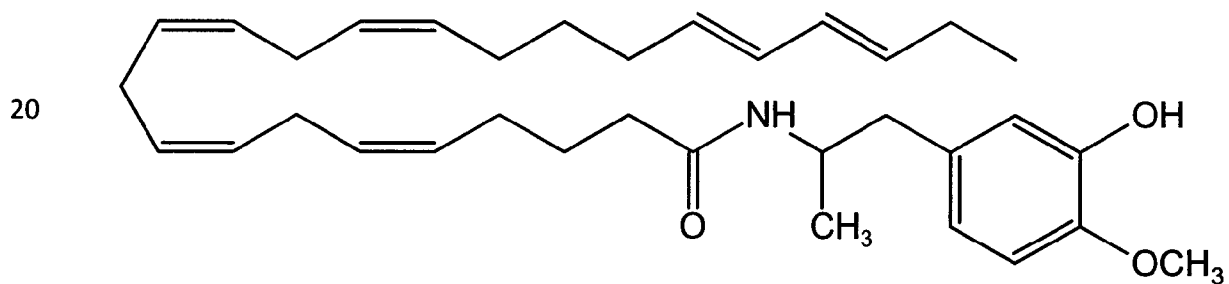
Fórmula (XI)



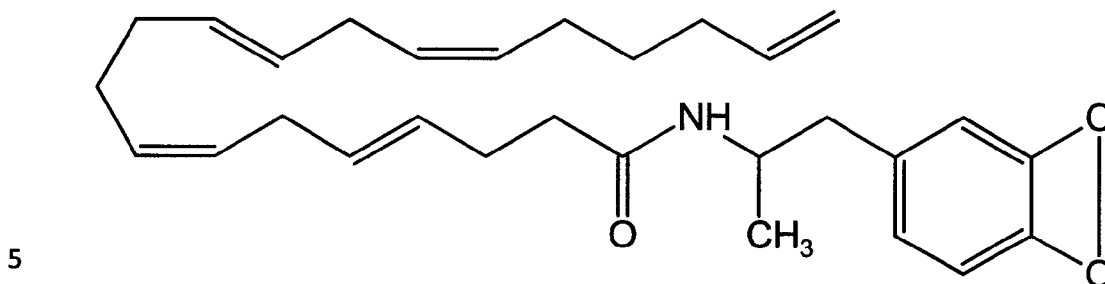
Fórmula (XII)



Fórmula (XIII)



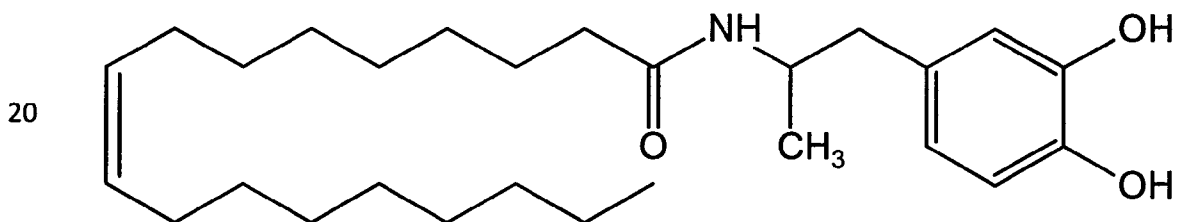
Fórmula (XIV)



Fórmula (XV)

o cualquiera de sus sales, preferiblemente  
 10 cualquier sal farmacéuticamente aceptable, ésteres,  
 tautómeros, polimorfos, hidratos farmacéuticamente  
 aceptables, o un isómero, profármacos, derivados, solvatos  
 o análogos, o cualquiera de sus combinaciones, o cualquiera  
 de sus combinaciones.

15 En una modalidad preferida de este aspecto de la  
 invención, el compuesto es el *N*-(1-(3,4-  
 dihidroxifenil)propan-2-il)oleamida (OLHHA).



Fórmula (III)

Los compuestos de la presente invención  
 25 representados por la fórmula (I) pueden incluir isómeros,

dependiendo de la presencia de enlaces múltiples, incluyendo isómeros ópticos o enantiómeros, dependiendo de la presencia de centros quirales. Los isómeros, enantiómeros o diastereoisómeros individuales y las mezclas  
5 de los mismos caen dentro del alcance de la presente invención, es decir, el término isómero también se refiere a cualquier mezcla de isómeros, como diastereómeros, racémicos, etc., incluso a sus isómeros ópticamente activos o las mezclas en distintas proporciones de los mismos. Los  
10 enantiómeros o diastereoisómeros individuales, así como sus mezclas, pueden separarse mediante técnicas convencionales.

Asimismo, dentro del alcance de esta invención se encuentran los profármacos de los compuestos de fórmula (I). El término "prodroga" o "profármaco" tal como aquí se  
15 utiliza incluye cualquier derivado de un compuesto de fórmula (I) -por ejemplo y no limitativamente: ésteres (incluyendo ésteres de ácidos carboxílicos, ésteres de aminoácidos, ésteres de fosfato, ésteres de sulfonato de sales metálicas, etc.), carbamatos, amidas, etc.- que al  
20 ser administrado a un individuo puede ser transformado directa o indirectamente en dicho compuesto de fórmula (I) en el mencionado individuo. Ventajosamente, dicho derivado es un compuesto que aumenta la biodisponibilidad del compuesto de fórmula (I) cuando se administra a un  
25 individuo o que potencia la liberación del compuesto de

fórmula (I) en un compartimento biológico. La naturaleza de dicho derivado no es crítica siempre y cuando pueda ser administrado a un individuo y proporcione el compuesto de fórmula (I) en un compartimento biológico de un individuo.

5 La preparación de dicho profármaco puede llevarse a cabo mediante métodos convencionales conocidos por los expertos en la materia.

Tal como aquí se utiliza, el término "derivado" incluye tanto a compuestos farmacéuticamente aceptables, es  
10 decir, derivados del compuesto de fórmula (I) que pueden ser utilizados en la elaboración de un medicamento o composiciones alimentarias, como derivados farmacéuticamente no aceptables, ya que éstos pueden ser útiles en la preparación de derivados farmacéuticamente  
15 aceptables.

Los compuestos de la invención pueden estar en forma cristalina como compuestos libres o como solvatos. En este sentido, el término "solvato", tal como aquí se utiliza, incluye tanto solvatos farmacéuticamente  
20 aceptables, es decir, solvatos del compuesto de fórmula (I) que pueden ser utilizados en la elaboración de un medicamento, como solvatos farmacéuticamente no aceptables, los cuales pueden ser útiles en la preparación de solvatos o sales farmacéuticamente aceptables. La naturaleza del  
25 solvato farmacéuticamente aceptable no es crítica siempre y

cuando sea farmacéuticamente aceptable. En una modalidad particular, el solvato es un hidrato. Los solvatos pueden obtenerse por métodos convencionales de solvatación conocidos por los expertos en la materia.

5           Para su aplicación en terapia, los compuestos de fórmula (I), sus sales, profármacos o solvatos, se encontrarán, preferentemente, en una forma farmacéuticamente aceptable o sustancialmente pura, es decir, que tiene un nivel de pureza farmacéuticamente  
10 aceptable excluyendo los aditivos farmacéuticos normales tales como diluyentes y portadores, y no incluyendo material considerado tóxico a niveles de dosificación normales. Los niveles de pureza para el principio activo son preferiblemente superiores al 50%, más preferiblemente  
15 superiores al 70%, y todavía más preferiblemente superiores al 90%. En una modalidad preferida, son superiores al 95% de compuesto de fórmula (I), o de sus sales, solvatos o profármacos.

20           *COMPOSICIÓN FARMACÉUTICA Y FORMA FARMACÉUTICA DE LA INVENCIÓN*

          Un **segundo aspecto** de la invención se refiere al uso de una composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto de la invención, o un tautómero, una sal farmacéuticamente aceptable, un derivado o un profármaco  
25 del mismo, junto con un transportador o carrier



farmacéuticamente aceptable, un excipiente o un vehículo, en la elaboración de un medicamento para la prevención, alivio y/o tratamiento del hígado graso o de una enfermedad o condición patológica causada por hígado graso.

5           En una modalidad preferida de este aspecto de la invención la enfermedad causada por hígado graso es la esteatohepatitis.

          En otra modalidad preferida de este aspecto de la invención, la composición farmacéutica de la invención se  
10   usa la elaboración de un medicamento para la prevención, alivio y/o tratamiento de una enfermedad causada por hígado graso no alcohólico (NAFLD), preferiblemente esteatohepatitis no alcohólica (NASH).

          En otra modalidad preferida de este aspecto de la  
15   invención, la composición farmacéutica de la invención se usa para la prevención, alivio o tratamiento de una enfermedad causada por hígado graso alcohólico (AFLD; *Alcoholic Fatty Liver Disease*), preferiblemente esteatohepatitis alcohólica (ASH; *alcoholic*  
20   *steatohepatitis*).

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

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

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

Por tanto, en otra modalidad preferida, la composición farmacéutica además comprende otro principio activo. Más preferiblemente, el principio activo se selecciona de la lista que consiste en: vitamina E, vitamina C, betaína, N-acetilcisteína, ácido

ursodesoxicólico, y otros antioxidantes.

Como se emplea aquí, el término "principio activo", "sustancia activa", "sustancia farmacéuticamente activa", "ingrediente activo" ó "ingrediente farmacéuticamente activo" significa cualquier componente que potencialmente proporcione una actividad farmacológica u otro efecto diferente en el diagnóstico, cura, mitigación, tratamiento, o prevención de una enfermedad, o que afecta a la estructura o función del cuerpo del hombre u otros animales. El término incluye aquellos componentes que promueven un cambio químico en la elaboración del fármaco y están presentes en el mismo de una forma modificada prevista que proporciona la actividad específica o el efecto.

Otro aspecto de la invención se refiere a una forma farmacéutica, de ahora en adelante forma farmacéutica de la invención, que comprende el compuesto de la invención o la composición de la invención.

En esta memoria se entiende por "forma farmacéutica" la mezcla de uno o más principios activos con o sin aditivos que presentan características físicas para su adecuada dosificación, conservación, administración y biodisponibilidad.

En otra modalidad preferida de la presente invención, las composiciones y formas farmacéuticas de la

invención son adecuadas para la administración oral, en forma sólida o líquida. Las posibles formas para la administración oral son tabletas, cápsulas, siropes o soluciones y pueden contener excipientes convencionales  
5 conocidos en el ámbito farmacéutico, como agentes agregantes (por ejemplo sirope, acacia, gelatina, sorbitol, tragacanto o polivinil pirrolidona), rellenos (por ejemplo lactosa, azúcar, almidón de maíz, fosfato de calcio, sorbitol o glicina), disgregantes (por ejemplo almidón,  
10 polivinil pirrolidona o celulosa microcristalina) o un surfactante farmacéuticamente aceptable como el lauril sulfato de sodio. Otras formas farmacéuticas pueden ser los sistemas coloidales, dentro de los cuales se incluyen nanoemulsiones, nanocápsulas y nanopartículas poliméricas.

15 Las composiciones para administración oral pueden ser preparadas por métodos los convencionales de Farmacia Galénica, como mezcla y dispersión. Las tabletas se pueden recubrir siguiendo métodos conocidos en la industria farmacéutica.

20 Las composiciones y formas farmacéuticas se pueden adaptar para la administración parenteral, como soluciones estériles, suspensiones, o liofilizados de los productos de la invención, empleando la dosis adecuada. Se pueden emplear excipientes adecuados, como agentes  
25 tamponadores del pH o surfactantes.

Las formulaciones anteriormente mencionadas pueden ser preparadas usando métodos convencionales, como los descritos en las Farmacopeas de diferentes países y en otros textos de referencia.

5 El término "medicamento", tal y como se usa en esta memoria, hace referencia a cualquier sustancia usada para prevención, diagnóstico, alivio, tratamiento o curación de enfermedades en el hombre y los animales.

La administración de los compuestos,  
10 composiciones o formas farmacéuticas de la presente invención puede ser realizada mediante cualquier método adecuado, como la infusión intravenosa y las vías oral, tópica o parenteral. La administración oral es la preferida por la conveniencia de los pacientes y por el carácter  
15 crónico de las enfermedades a tratar.

La cantidad administrada de un compuesto de la presente invención dependerá de la relativa eficacia del compuesto elegido, la severidad de la enfermedad a tratar y el peso del paciente. Sin embargo, los compuestos de esta  
20 invención serán administrados una o más veces al día, por ejemplo 1, 2, 3 ó 4 veces diarias, con una dosis total entre 0.1 y 1000 mg/Kg/día. Es importante tener en cuenta que puede ser necesario introducir variaciones en la dosis, dependiendo de la edad y de la condición del paciente, así  
25 como modificaciones en la vía de administración.

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

#### COMPOSICIÓN ALIMENTARIA

Un **tercer aspecto** de la invención se refiere a una composición alimentaria tal y como una composición nutracéutica o una composición del tipo "*medical food*", de ahora en adelante composición alimentaria de la invención, que comprende al menos uno de los compuestos de fórmula (I).

La composición alimentaria de la invención comprende el compuesto de la invención en una cantidad eficaz para la prevención, alivio y/o tratamiento de una enfermedad causada por hígado graso no alcohólico (NAFLD), y preferiblemente para la prevención, alivio y tratamiento de la esteatohepatitis no alcohólica (NASH), en mamíferos, incluyendo un ser humano. Las composiciones alimentarias preferidas se seleccionan de la lista que consiste en: una bebida, leche, yogur, queso, leche fermentada, bebida de leche aromatizada, leche de soja, cereales precocinados, pan, pasteles, mantequilla, margarina, salsas, aceites para freír, aceites vegetales, aceite de maíz, aceite de oliva,

aceite de soja, aceite de palma, aceite de girasol, aceite de semilla de algodón, condimentos, aderezos para ensaladas, zumos de frutas, jarabes, postres, glaseados y rellenos, productos congelados blandos, dulces, chicles y alimentos intermedios. La composición alimentaria de la invención puede ser un suplemento nutricional o dietético. En otra modalidad preferida, el suplemento nutricional o dietético comprende una composición estéril que contiene el compuesto de la invención, preferentemente provisto de un revestimiento resistente a los ácidos gástricos, siendo una composición de liberación retardada. En otra modalidad preferida, la composición alimentaria, incluyendo el compuesto de la invención y/o el suplemento nutricional o dietético comprende "portadores" apropiados tales como diluyentes, adyuvantes, excipientes o vehículos con los que se administra el compuesto de la invención. Excipientes apropiados adecuados incluyen, pero no se limitan a almidón, glucosa, fructosa, lactosa, sacarosa, gelatina, malta, arroz, harina, sulfato de calcio, gel de sílice, estearato de sodio, monoestearato de glicerol, talco, cloruro de sodio, leche descremada en polvo, glicerol, propileno, glicol, agua, etanol, y similares. Tales suplementos nutricionales se pueden utilizar para combatir problemas hepáticos, y ayudan a mantener la salud o un estilo de vida saludable al mamífero, preferiblemente un

ser humano.

Un **cuarto aspecto** de la invención se refiere al uso de la composición alimentaria de la invención para la prevención, alivio o tratamiento del hígado graso o de una enfermedad o condición patológica causada por hígado graso, preferiblemente esteatohepatitis en mamíferos, preferiblemente seres humanos. Alternativamente, se refiere al uso de la composición alimentaria de la invención, para la prevención y/o tratamiento del hígado graso o de una enfermedad o condición patológica causada por hígado graso, preferiblemente la esteatohepatitis.

En una modalidad preferida de este aspecto de la invención, la composición alimentaria de la invención se usa para la prevención, alivio o tratamiento de una enfermedad causada por hígado graso no alcohólico (NAFLD), preferiblemente esteatohepatitis no alcohólica (NASH).

En otra modalidad preferida de este aspecto de la invención, la composición alimentaria de la invención se usa para la prevención, alivio o tratamiento de una enfermedad causada por hígado graso alcohólico (AFLD; *Alcoholic Fatty Liver Disease*), preferiblemente esteatohepatitis alcohólica (ASH; *alcoholic steatohepatitis*).

El término "tratamiento" tal como se entiende en la presente invención se refiere a combatir los efectos



causados como consecuencia de una enfermedad o condición patológica de interés en un sujeto (preferiblemente mamífero, y más preferiblemente un humano) que incluye:

(i) inhibir la enfermedad o condición patológica, es decir, detener su desarrollo;

(ii) aliviar la enfermedad o la condición patológica, es decir, causar la regresión de la enfermedad o la condición patológica o su sintomatología;

(iii) estabilizar la enfermedad o la condición patológica.

El término "prevención" tal como se entiende en la presente invención consiste en evitar la aparición de la enfermedad, es decir, evitar que se produzca la enfermedad o la condición patológica en un sujeto (preferiblemente mamífero, y más preferiblemente un humano), en particular, cuando dicho sujeto tiene predisposición por la condición patológica.

El procedimiento de obtención de un compuesto de fórmula (I) podría comprender las siguientes etapas:

a) conjugación entre un compuesto de fórmula general (III) y cloroformiato de bencilo para dar lugar a un nuevo compuesto de fórmula general (IV), que comprende la siguiente reacción:



alqueno C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>;

R<sub>4</sub> se puede seleccionar entre H, halógeno y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>;

R<sub>6</sub> se puede seleccionar entre H y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>;

5 R<sub>7</sub> se puede seleccionar entre alquilo C<sub>8</sub>-C<sub>30</sub> y alqueno C<sub>8</sub>-C<sub>30</sub>;

R<sub>8</sub> se puede seleccionar entre NH<sub>3</sub>, NH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>, NH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>, NH-(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, N-(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, NH-(CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> y N-(CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>;

c) evaporación de la dimetilformamida y extracción con acetato de etilo y agua;

d) tratamiento de la fase orgánica con sulfato de sodio anhidro y evaporación del disolvente;

e) purificación del compuesto de fórmula (I) por cromatografía en columna de gel de sílice FLASH.

Los compuestos de fórmula general (I) fueron sintetizados de acuerdo con la metodología previamente descrita (*ChemMedChem*.2010,5(10), 1781-1787).

A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra "comprende" y sus variantes no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o pasos. Para los expertos en la materia, otros objetos, ventajas y características de la invención se desprenderán en parte de la descripción y en parte de la práctica de la invención. Los siguientes ejemplos y figuras

se proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean limitativos de la presente invención.

#### **EJEMPLOS DE LA INVENCION**

Todos los experimentos se llevaron a cabo en  
5 ratas macho Zucker obesas (*fa/fa*) y delgadas (*Fa/?*) de 8-9  
semanas de edad. Los animales se pusieron en jaulas  
individuales en una habitación con temperatura, humedad e  
iluminación (ciclos de 12 horas luz / oscuridad)  
controladas, y con acceso libre a comida y agua (dieta  
10 estándar de laboratorio).

OLHHA se disolvió en un vehículo conteniendo un  
5% de Tween80 en salino y se administró intraperitonealmente  
(i.p.) a una dosis de 5 mg/kg (volumen de 1 ml/kg peso  
corporal) al principio del ciclo de luz (09:00 h-10:00 h)  
15 durante 15 días consecutivos. Transcurridas 2h desde la  
última inyección, los animales fueron eutanizados usando  
pentobarbital sódico (50mg/kg, i.p.) y se extrajeron muestras  
de sangre e hígado. La sangre se centrifugó a 2100x g durante  
8 min a 4°C y el plasma obtenido se guardó a -80°C para los  
20 posteriores análisis. Las muestras de hígado también se  
almacenaron a -80°C.

Ejemplo 1. Efectos del tratamiento crónico con  
OLHHA sobre la ganancia del peso corporal y la ingesta en  
ratas Zucker.

25 Los animales recibieron diariamente una inyección

(i.p.) de vehículo o de OLHHA (5 mg/kg) durante 15 días consecutivos. Para este experimento se usaron 8 ratas por grupo. La ganancia de peso corporal total (g) y la ingesta de alimentos acumulada (g/kg de peso corporal) se evaluaron  
5 diariamente.

En las ratas delgadas, el OLHHA produjo una inhibición significativa de la ganancia de peso corporal y una disminución significativa en la ingesta de alimentos acumulada que comenzó en el quinto día de tratamiento en  
10 comparación con ratas tratadas con vehículo (Figura 1A, Figura 1B). En ratas obesas, el tratamiento no produjo ningún efecto sobre la ganancia de peso corporal y la ingesta de alimentos acumulada (Figura 1C, Figura 1D). Los resultados se expresan como medias  $\pm$  SEM (n = 8 animales  
15 por grupo). Los datos se analizaron por ANOVA de dos vías (genotipo y el tratamiento) y análisis post-hoc de Bonferroni. \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$  y \*\*\* $p < 0.001$  denotan diferencias significativas en comparación con el grupo tratado con vehículo.

20 Ejemplo 2. Efectos del tratamiento crónico con OLHHA sobre el contenido de grasa en hígado y el nivel de triglicéridos en plasma en ratas Zucker.

El contenido de grasa total en el hígado y el nivel de triglicéridos en plasma se evaluaron en ratas  
25 Zucker delgadas y obesas después de un tratamiento de 15

días con OLHHA (5 mg/kg, una vez al día). Las muestras para el análisis de lípidos se obtuvieron 2h después de la última inyección.

Para la cuantificación de la grasa hepática se siguió el método de Bligh & Dyer (Bligh and Dyer, 1959). Los lípidos totales fueron extraídos utilizando una mezcla extractiva compuesta por cloroformo:metanol en una proporción 2:1 (v/v); además, como la mayoría de los lípidos contienen dobles enlaces sensibles a la oxidación, se añadió un 0.025% del antioxidante butilhidroxitolueno. Las muestras de hígado se homogeneizaron y se centrifugaron un par de veces a 2800x *g* durante 10 min a 4°C. Los lípidos, que estaban concentrados en la fase orgánica inferior, fueron extraídos y desecados en corriente de nitrógeno. El contenido de grasa se expresó como % del peso de tejido.

Para la determinación de triglicéridos circulantes se utilizó un *kit* comercial (Randox Laboratories) que se basa en un método colorimétrico que determina el contenido de triglicéridos tras una hidrólisis enzimática con lipasas.

Las ratas obesas mostraron un aumento de tres veces en el contenido total de grasa en el hígado en comparación con las ratas delgadas (Figura 2A), así como un marcado aumento en los triglicéridos (cinco veces)

circulantes (Figura 2B). En ambos casos, el tratamiento con OLHHA previno de estos incrementos. Los resultados se expresan como medias  $\pm$  SEM (n = 8 animales por grupo). Los datos se analizaron por ANOVA de dos vías (genotipo y el tratamiento) y análisis post-hoc de Bonferroni. \* $p < 0.05$  y \*\*\* $p < 0.001$  denotan diferencias significativas en comparación con el grupo tratado con vehículo correspondiente. ### $p < 0.001$  denota diferencias significativas en comparación con el grupo delgado tratado con el vehículo.

OLHHA reduce los niveles de grasa en el hígado y de triglicéridos plasmáticos en animales obesos con hígado graso.

Ejemplo 3. Efectos del tratamiento crónico con OLHHA sobre el nivel de transaminasas hepáticas en ratas obesas.

Para la determinación de transaminasas hepáticas en suero se utilizaron kits comerciales y se analizaron en un analizador de bioquímica automático Hitachi 737.

La administración de 5 mg/kg (i.p.) de OLHHA durante 15 días produjo una disminución en los niveles de enzimas transaminasas: alaninoaminotransferasa (ALT) (Figura 3A) y la aspartatoaminotransferasa (AST) (Figura 3B) en animales obesos, resultando estadísticamente significativo en el caso de ALT (\* $p < 0.05$ ). Estas enzimas

son indicadoras del daño a la célula hepática. Las ALT y AST son enzimas en las células hepáticas que permean hacia la circulación sanguínea cuando existe daño en la célula hepática. Se cree que la ALT es un indicador más específico de la inflamación hepática, mientras que la AST puede aparecer elevada en enfermedades de otros órganos, como el corazón o el músculo. La ALT y la AST son a menudo usadas para valorar el avance de la hepatitis crónica.

Respecto a la enzima gammaglutamiltranspeptidasa (GGt) (Figura 3C) no observamos efecto respecto al grupo tratado con vehículo. GGt es una enzima indicadora de obstrucción del sistema biliar, ya sea en el hígado o en los canales mayores de la bilis que se encuentran fuera de este órgano. La GGt se incrementa en una gran cantidad de trastornos que afectan el drenaje de la bilis, como cuando existe una enfermedad hepática causada por el alcohol o las drogas, que ocasiona un bloqueo del flujo de la bilis en los canales más pequeños dentro del hígado.

OLHHA mejora el perfil de transaminasas hepáticas en plasma con una caída de ALT y AST.

Ejemplo 4. Efectos del tratamiento crónico con OLHHA sobre el nivel de citoquinas pro-inflamatorias en ratas obesas.

Los niveles circulantes de IL-6 y TNF- $\alpha$  se midieron mediante ELISAs utilizando kits comerciales



(Abcam).

La administración de 5 mg/kg (i.p.) de OLHHA durante 15 días indujo una caída de citoquinas pro-inflamatorias (Figura 4A y Figura 4B), concretamente sobre  
5 TNF alfa aunque no llegó a alcanzar un grado de significatividad. No obstante no se detectó cambios sobre los niveles plasmáticos de IL6. Numerosas patologías, incluida la obesidad y trastornos relacionados como la esteatosis hepáticas se caracterizan por presentar un  
10 perfil pro-inflamatorio a través de citoquinas y células inmunitarias.

OLHHA mejora el perfil pro-inflamatorio de animales obesos con una reducción de TNF $\alpha$  en plasma.

Ejemplo 5. Efectos del tratamiento crónico con  
15 OLHHA sobre el nivel de proteínas plasmáticas relacionadas con la función renal en ratas obesas.

Para la determinación de creatinina y urea en suero se utilizaron kits comerciales y se analizaron en un analizador de bioquímica automático Hitachi 737.

20 La administración de 5 mg/kg (i.p.) de OLHHA durante 15 días no afectó a los niveles de creatinina (Figura 5A) pero provocó una importante disminución en los niveles de urea (\*\*p<0.001) respecto a los animales tratados con vehículo (Figura 5B). Esta disminución en la  
25 concentración de urea se relaciona con una normalización de

la actividad hepática y del catabolismo de proteínas.

La creatinina y la urea son dos sustancias presentes en la sangre que suelen ser determinadas cuando se pretende hacer una evaluación de la función renal.

5 Medir la creatinina es una prueba simple y es el indicador más común de la función renal, de su capacidad de filtración. En cuanto a la urea, es el resultado final del metabolismo de las proteínas y se forma en el hígado a partir de la destrucción de las proteínas.

10 OLHHA mejora la función renal a través de una reducción de los niveles plasmáticos incrementados de urea.

Efectos del tratamiento crónico con OLHHA sobre la expresión de genes en el hígado de ratas Zucker.

Para el aislamiento del ARN total del hígado, las  
15 muestras se homogeneizaron en Trizol y posteriormente se purificaron utilizando el RNeasy Minelute Cleanup Kit de Qiagen (elimina selectivamente la mayoría de las moléculas menores a 200 nucleótidos), que también incluyó un tratamiento con ADNasa. La concentración total de ARNm se  
20 cuantificó utilizando un espectrofotómetro. En todos los casos, la ratio A260/280 estaba entre 1.8 y 2. La síntesis del ADN complementario se llevó a cabo por transcripción reversa utilizando el kit Transcriptor Reverse Transcriptase (Transcriptor RT, Roche Diagnostic). Para la  
25 PCR a tiempo real (RT-qPCR) se utilizó un ABI PRISM® 7300

Real-Time PCR System (Applied Biosystems) y sondas TaqMan. La amplificación de un solo producto se confirmó mediante el análisis de las curvas de Melting. Los valores de cada muestra fueron normalizados respecto al gen constitutivo beta-actina. La cuantificación relativa fue calculada mediante el método  $\Delta\Delta Ct$  y normalizada al grupo control. Las sondas Taqman fueron obtenidas de la base de datos del genoma de la rata de Applied Biosystems (<http://bioinfo.appliedbiosystems.com/genome-database/gene-expression.html>):

Gen	ID	N° GenBank	Longitud amplicon
<i>Beta-actina</i>	Rn00667869_m1	NM_031144.2	91
<i>FAS</i>	Rn01463550_m1	NM_017332.1	148
<i>HMG-CoAR</i>	Rn00565598_m1	NM_013134.2	71
<i>ACOX</i>	Rn01460628_m1	NM_017340.2	63
<i>INSIG2</i>	Rn00710111_m1	NM_178091.4	89
<i>NAPE-PLD</i>	Rn01786262_m1	NM_199381.1	71

Ejemplo 6. Efectos del tratamiento crónico con OLHHA sobre la expresión génica de enzimas implicadas en el metabolismo de lípidos en el hígado de ratas Zucker.

La expresión del ARNm de las enzimas implicadas

en las rutas para la lipogénesis (FAS y de la HMG-CoAR) o la oxidación de ácidos grasos (ACOX) se analizaron por RT-qPCR en el hígado de ratas Zucker tratadas crónicamente con OLHHA (Figura 6A, Figura 6B y Figura 6C). Los niveles de expresión génica de estas enzimas mostraron cambios significativos como resultado del tratamiento. De hecho, OLHHA produjo una disminución significativa de las enzimas implicadas en la biosíntesis de ácidos grasos (Figura 6A) y en la biosíntesis de colesterol (Figura 6B). Por el contrario, el compuesto indujo un aumento significativo de la ACOX (Figura 6C), la enzima implicada en  $\beta$ -oxidación. Los resultados están expresados como medias  $\pm$  SEM (n = 8 animales por grupo). Los datos se analizaron por ANOVA de dos vías (genotipo y el tratamiento) y análisis post-hoc de Bonferroni. \* $p < 0.05$  y \*\*\* $p < 0.001$  denotan diferencias significativas en comparación con el grupo tratado con vehículo correspondiente. ## $p < 0.01$  y ### $p < 0.001$  denotan diferencias significativas en comparación con el grupo delgado tratado con el vehículo.

Ejemplo 7. Efectos del tratamiento crónico con OLHHA sobre la expresión génica de *INSIG2* y *NAPE-PLD* en el hígado de ratas Zucker.

La expresión del ARNm del factor regulador *INSIG2* y de la enzima implicada en la biosíntesis de la anandamida, la *NAPE-PLD*, se analizaron por RT-qPCR en el

hígado de ratas Zucker tratados crónicamente con OLHHA (Figura 7A y Figura 7B). La expresión de INSIG2, un factor regulador de la biosíntesis de colesterol, se incrementó significativamente por OLHHA (Figura 7A), mientras que la expresión del gen de la NAPE-PLD, un factor pro-lipogénico relacionada con el sistema endocannabinoide, se redujo significativamente después del tratamiento OLHHA (Figura 7B). Los resultados se expresan como medias  $\pm$  SEM (n = 8 animales por grupo). Los datos se analizaron por ANOVA de dos vías (genotipo y el tratamiento) y análisis post-hoc de Bonferroni. \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$  y \*\*\* $p < 0.001$  denotan diferencias significativas en comparación con el grupo tratado con vehículo correspondiente. ### $p < 0.001$  denota diferencias significativas en comparación con el grupo delgado tratado con vehículo.

#### Ejemplo 8. Cardiotoxicidad del OLHHA.

El ensayo de canal de hERG se utilizó para identificar si OLHHA puede tener potencial para causar cardiotoxicidad (Figura 8A y Figura 8B). Para caracterizar mejor el comportamiento del canal de potasio hERG en presencia del compuesto se utilizó un ensayo funcional basado en la utilización de una sonda fluorescente (FluxORTM, Invitrogen) que emite fluorescencia tras su unión a iones talio (Beacham et al. 2010). El FluxORTM está protegido por grupos AM que impiden la fluorescencia fuera

de la célula. Cuando entra en la célula, las esterasas del citosol eliminan los grupos AM, y el FluxORTM pasará a su forma activa en la que es capaz de unir el talio, que pasa al citoplasma a través del canal hERG, resultando en la  
5 emisión de fluorescencia. Las células HEK293 expresando el canal hERG se sembraron en placas negras de 96 pocillos tratadas con poli-D-lisina y se dejaron incubando durante 24 h. Después de este tiempo, las placas fueron lavadas con tampón de ensayo (NaCl 165 mM, KCl 4.5 mM, CaCl<sub>2</sub> 2 mM,  
10 MgCl<sub>2</sub> 1mM, Hepes 10 mM y glucosa 10 mM, pH 7.4). A continuación se añadieron 20 µl de FluxORTM disuelto en tampón de ensayo. El fluorocromo se dejó incubando con las células durante 1 h a temperatura ambiente. A continuación se lavaron las placas con 50µl de tampón de ensayo y se  
15 añadió el compuesto OLHHA a una dilución 1:200 (2 µl de OLHHA / 400µl de tampón de ensayo) utilizando una estación EP3. De la mezcla, 20 µl fueron pipeteados a 3 placas de células, siendo ensayado por triplicado en curvas de 12 puntos (diluciones 1:2) a una concentración máxima de 150  
20 µM. Las placas fueron incubadas con OLHHA 30 minutos y a continuación se leyeron en un FLIPRTETRA, el cual añadió 5 µl de tampón de estímulo (Tl<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> + K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), y realizó la lectura de la fluorescencia durante 120 s, permitiendo analizar la cinética del canal.

25 En los estudios con células HEK-293 que expresan

hERG, OLHHA no mostró ninguna actividad, encontrándose una  $IC_{50}$  superior a 150  $\mu M$  en comparación con los inhibidores estándar de control (valores de  $IC_{50}$  para la amiodarona, 1.7 M; bepridil, 2.2 M; haloperidol, 1.9 $\mu M$ ; terfenadina, 1.0 $\mu M$ ). Por lo tanto, OLHHA es un medicamento con actividad inhibidora de hERG y se puede considerar un fármaco seguro desprovisto de cardiotoxicidad.

OLHHA no presenta efectos cardiotóxicos.

#### Ejemplo 9. Farmacocinética del OLHHA.

Los citocromos P450 (CYP) son una familia de enzimas que juegan un papel importante en el metabolismo de fármacos. La evaluación del potencial de un compuesto para inhibir una enzima específica del CYP es importante a la hora de conocer la co-administración de compuestos, que puede dar lugar a que uno o ambos inhiban el metabolismo del otro. Esto puede afectar los niveles de plasma *in vivo* y potencialmente dar lugar a reacciones adversas o toxicidad. Los datos de inhibición de citocromo P450 *in vitro* son útiles en el diseño de estrategias para investigar estudios clínicos de interacción fármaco-fármaco (drug-drug interaction).

Para la preparación del OLHHA, éste fue guardado en condiciones óptimas (a 4°C, protegido de la luz) hasta su utilización. OLHHA en estado sólido (polvo) se disolvió en DMSO a 30 mM. y fue diluido de modo seriado con un

factor de dilución de 2 para la obtención de 8 concentraciones. Se sabe que los CYPs son inhibidos por una variedad de solventes orgánicos y los efectos de esta inhibición pueden variar según el tipo y concentración del solvente. Por ello, cuando DMSO se utiliza como solvente la concentración recomendada es 0.35% o menos. Sin embargo, el acetonitrilo es tolerado por la mayoría de CYPs humanos. Teniendo en cuenta esto, las diluciones seriadas de compuesto DMSO se diluyeron con acetonitrilo. De este modo el contenido orgánico final y dosis máxima en el ensayo quedaron establecidos en 0.35% DMSO, 0.65% acetonitrilo y 105  $\mu$ M respectivamente. OLHHA fue testado por triplicado. La interferencia fluorescente (*Quenching*) fue determinada con cada dilución de OLHHA. Las incubaciones se realizaron en el intervalo de tiempo lineal y la concentración de sustrato se acercó a la constante de Michaelis-Menten  $K_m$

OLHHA no mostró fluorescencia o interferencias en quenching. OLHHA exhibió valores de  $IC_{50}$  mucho más altos que los inhibidores de control de las isoenzimas CYP (CYP3A4, CYP2C9 y CYP2D6).

Los resultados se muestran a continuación:



**Tabla 1. Ensayo fluorométrico de inhibición del citocromo P450 usando como inhibidor control el Cetoconazol.**

5

Compuesto	CYP3A4	Lower
	IC <sub>50</sub> (μM)	Upper
OLHHA	14,8	12,8
Cetoconazol	0,05	17,2

CL: nivel de confianza

10 **Tabla 2. Ensayo fluorométrico de inhibición del citocromo P450 usando como inhibidor control el Sulfafenazol.**

15

Compuesto	CYP2C9	Lower
	IC <sub>50</sub>	Upper
OLHHA	6,8	5,9
Sulfafenazol	0,2	7,8

CL: nivel de confianza

**Tabla 3. Ensayo fluorométrico de inhibición del citocromo P450 usando como inhibidor control la Quinidina.**

20

Compuesto	CYP2D6	Lower
	IC <sub>50</sub> (μM)	Upper
OLHHA	23,3	21,4
Quinidina	0,02	25,3

CL: nivel de confianza

Inhibidores fuertes  $IC_{50} < 1\mu M$

Inhibidores moderados  $1\mu M < IC_{50} < 10\mu M$

Inhibidores débiles  $IC_{50} > 10\mu M$

**Tabla 4. Grado de inhibición del OLHHA.**

5

Compuesto	CYP3A4	CYP2C9	CYP2D6
	Categoría	Categoría	Categoría
	Inhibidor	Inhibidor	Inhibidor
OLHHA	Débil	Moderado	Débil

10

OLHHA por lo tanto puede ser considerado como un inhibidor de CYP moderado/débil, indicando un buen perfil farmacocinético de no interacción con otros fármacos y efectos adversos.

15

Ejemplo 10. Evaluación histológica del efecto del tratamiento crónico con OLHHA sobre el hígado graso en ratas Zucker obesas.

El análisis histológico de los hígados de las ratas Zucker obesas tratadas con vehículo o con OLHHA confirmó los resultados bioquímicos de cuantificación de la grasa total. Tal como se observa en las Figuras 9A a 9D, tanto la tinción de hematoxilina-eosina como la de rojo oleoso revelaron una disminución en el contenido de grasa hepática en los animales tratados con OLHHA. Además, se observó una reducción de la actividad apoptótica, la cual

25

está muy incrementada en el hígado graso de las ratas obesas tratadas con vehículo. Como se puede observar en la Figuras 10A a 10F, el OLHHA redujo la expresión de Caspasa-3 (un mediador de los procesos de apoptosis), tanto la forma activada como total.

Ejemplo 11. Efecto del tratamiento crónico con OLHHA sobre la expresión génica de la proteína L-FABP en el hígado de ratas Zucker.

Además de la reducción en la expresión de genes de enzimas lipogénicas, como se observa en la Figura 11 el tratamiento con OLHHA aumentó el nivel de ARNm de la proteína hepática de unión a ácidos grasos (L-FABP), implicada en el transporte y metabolismo de lípidos.

Ejemplo 12. Efecto del tratamiento crónico con OLHHA sobre los niveles de proteína de las enzimas implicadas en el metabolismo lipídico en el hígado de ratas Zucker obesas.

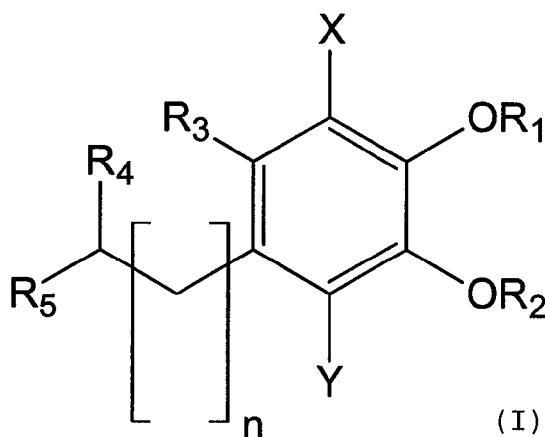
Finalmente, los cambios observados en el nivel de ARNm de las enzimas lipogénicas FAS y HMG-CoAR tras el tratamiento con OLHHA en ratas obesas se confirmaron también a nivel de la expresión de proteína (Figuras 12A, 12B, 12C y 12D).

REIVINDICACIONES

1. Uso del compuesto de fórmula general (I):

5

10



donde

X e Y pueden ser iguales o diferentes de forma independiente y se seleccionan entre H, halógeno y metilo;

15

n es un número entero desde 1 a 4;

R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> pueden ser iguales o diferentes de forma independiente y se seleccionan entre H y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> o pueden estar unidos por un enlace simple entre los dos átomos de oxígeno, formando un nuevo ciclo;

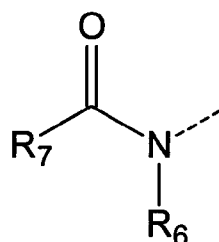
20

R<sub>3</sub> se selecciona entre H, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y alqueniilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>;

R<sub>4</sub> se selecciona entre H, halógeno y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>;

R<sub>5</sub> es un compuesto de fórmula general (II):

25



(II)

5

donde en el compuesto de formula general (II):

- R<sub>6</sub> se selecciona entre H y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>; y
  - R<sub>7</sub> se selecciona entre alquilo C<sub>8</sub>-C<sub>30</sub> y alquenoilo C<sub>8</sub>-C<sub>30</sub> o cualquiera de sus sales, ésteres, tautómeros, solvatos e hidratos farmacéuticamente
- 10 aceptables, o cualquiera de sus combinaciones,

en la elaboración de un medicamento para la prevención, alivio y/o tratamiento del hígado graso o de una enfermedad o condición patológica causada por hígado

15 graso.

2. El uso del compuesto de conformidad con la reivindicación 1, donde la enfermedad causada por hígado graso es la esteatohepatitis.

3. El uso del compuesto de conformidad con la

20 reivindicación 1, en la elaboración de un medicamento para la prevención, alivio y/o tratamiento de una enfermedad causada por hígado graso no alcohólico (NAFLD).

4. El uso del compuesto de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde la

25 enfermedad causada por hígado graso no alcohólico (NAFLD)

es la esteatohepatitis no alcohólica (NASH).

5. El uso del compuesto de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, donde X e Y pueden ser iguales o diferentes de forma independiente y se  
5 seleccionan entre H y CH<sub>3</sub>.

6. El uso del compuesto de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, donde n es 1.

7. El uso del compuesto de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, donde R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub>  
10 pueden ser iguales o diferentes de forma independiente y se seleccionan entre H y metilo o pueden estar unidos por un enlace simple entre los dos átomos de oxígeno formando un nuevo ciclo.

8. El uso del compuesto de conformidad con  
15 cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 donde R<sub>3</sub> se selecciona entre H y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>.

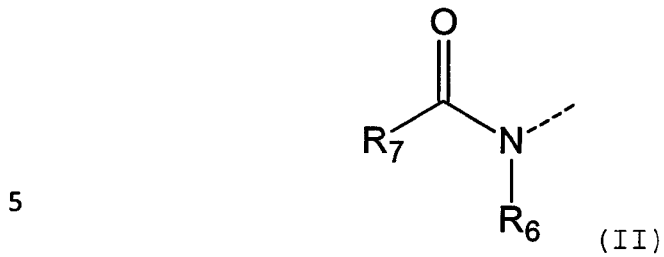
9. El uso del compuesto de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 donde R<sub>3</sub> es H.

10. El uso del compuesto de conformidad con  
20 cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, donde R<sub>4</sub> se selecciona entre H y CH<sub>3</sub>.

11. El uso del compuesto de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, donde R<sub>4</sub> es CH<sub>3</sub>.

12. El uso del compuesto de conformidad con  
25 cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, donde R<sub>5</sub> es un

compuesto de fórmula (II):

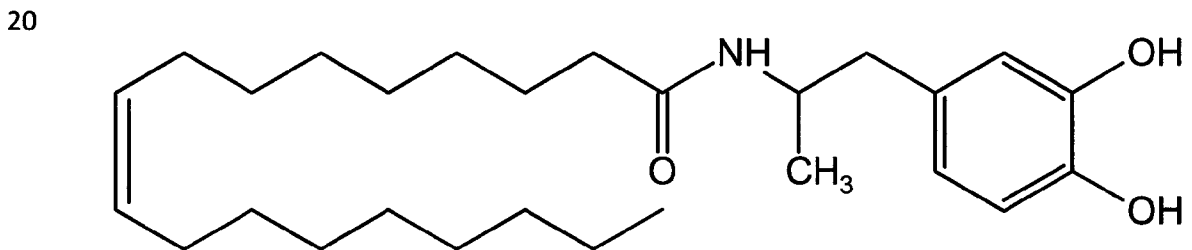


donde  $R_6$  se selecciona entre H y  $CH_3$  y  $R_7$  es un grupo alquenilo  $C_{15}-C_{25}$ .

13. El uso del compuesto de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, donde  $R_7$  tiene un número de insaturaciones entre 1 y 6.

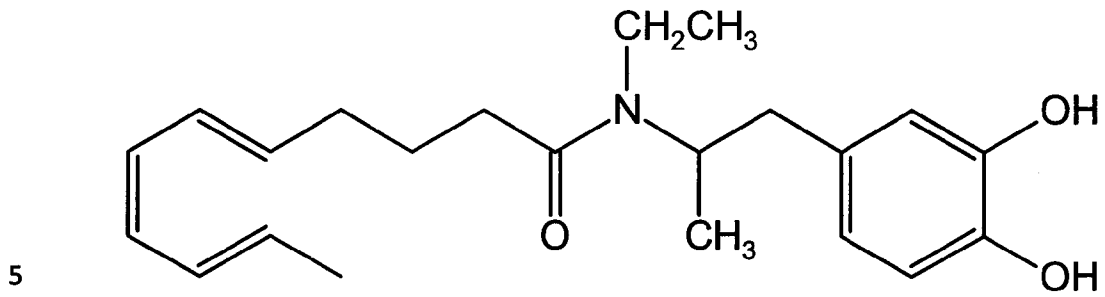
14. El uso del compuesto de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, donde  $R_7$  tiene más preferiblemente un número de insaturaciones entre 1 y 4.

15. El uso del compuesto de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, donde el compuesto se selecciona de entre cualquiera de los compuestos seleccionados de la lista que consiste en:

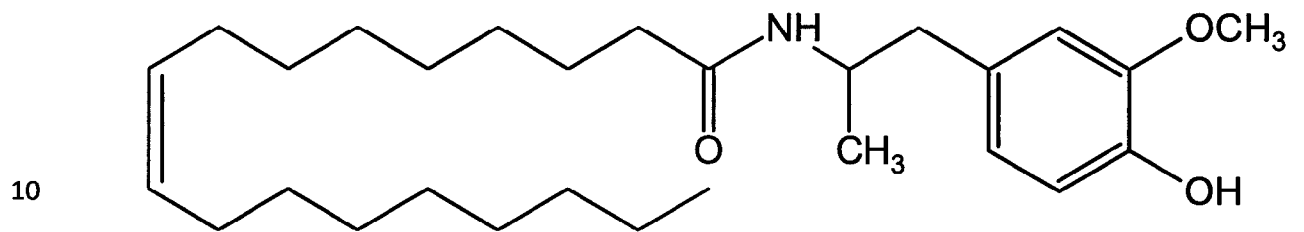


Fórmula (III)

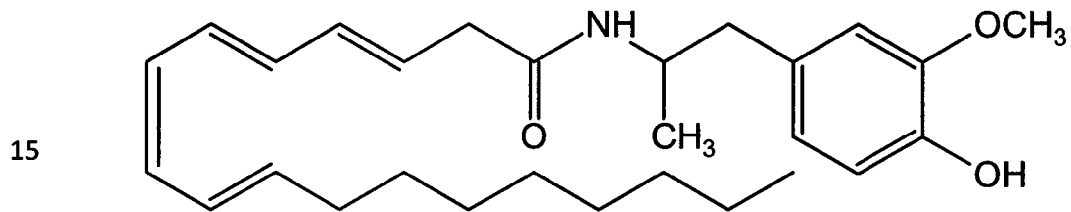
25



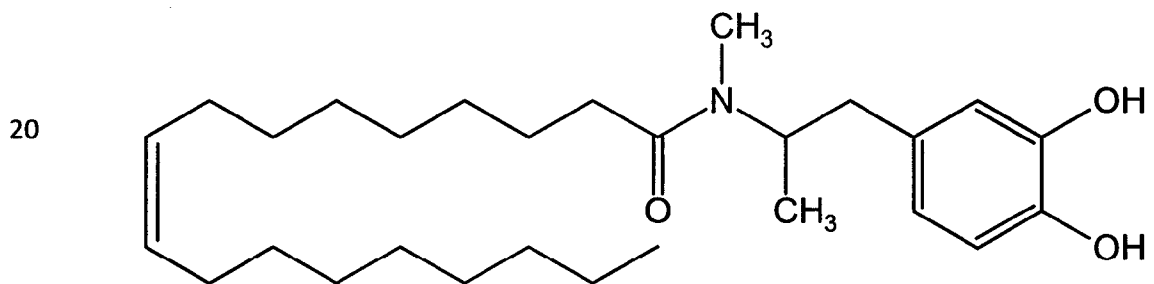
Fórmula (IV)



Fórmula (V)

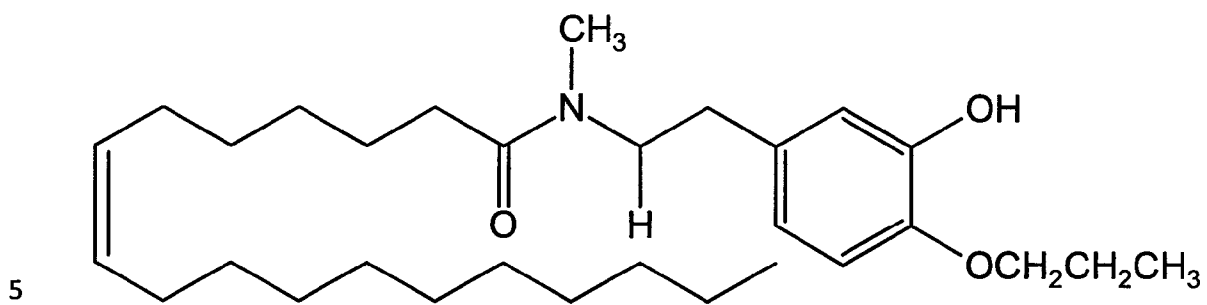


Fórmula (VI)

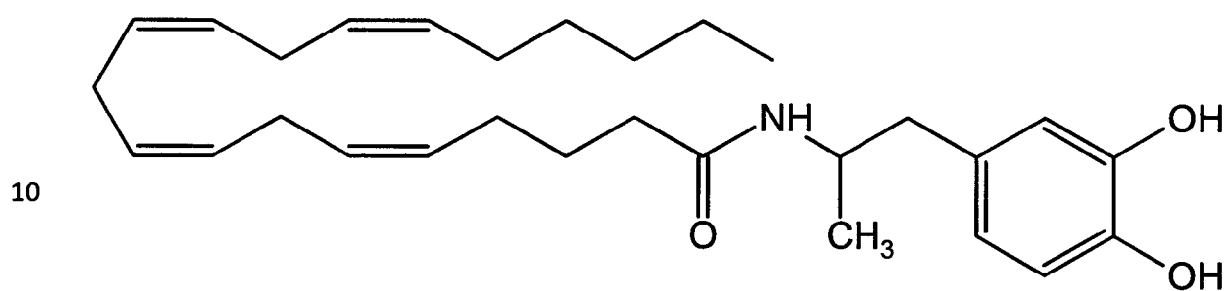


Fórmula (VII)

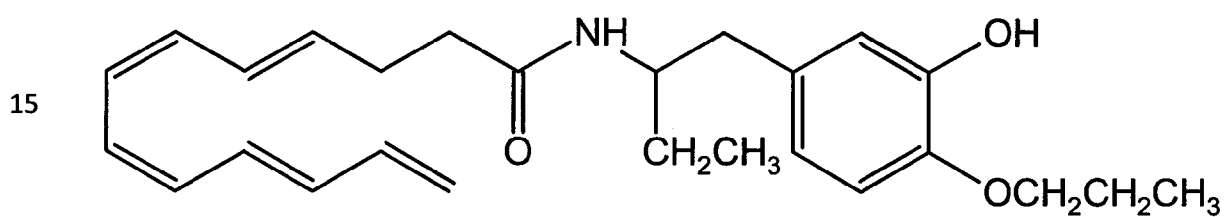




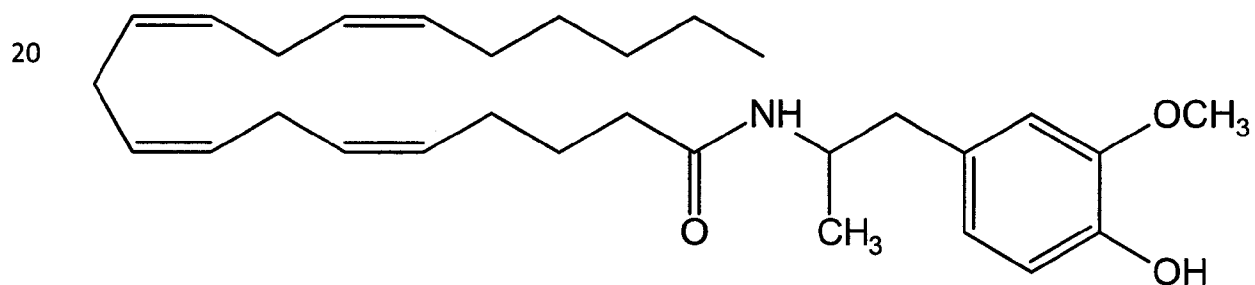
Fórmula (VIII)



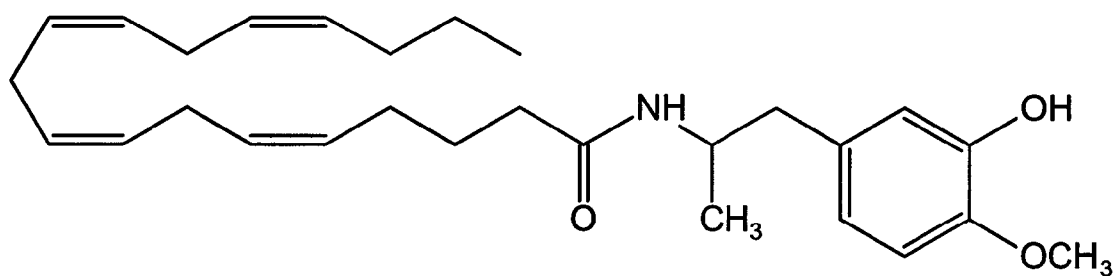
Fórmula (IX)



Fórmula (X)

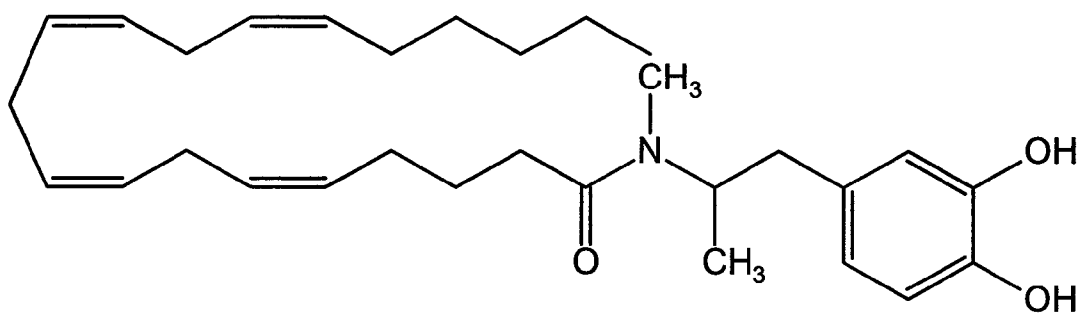


Fórmula (XI)



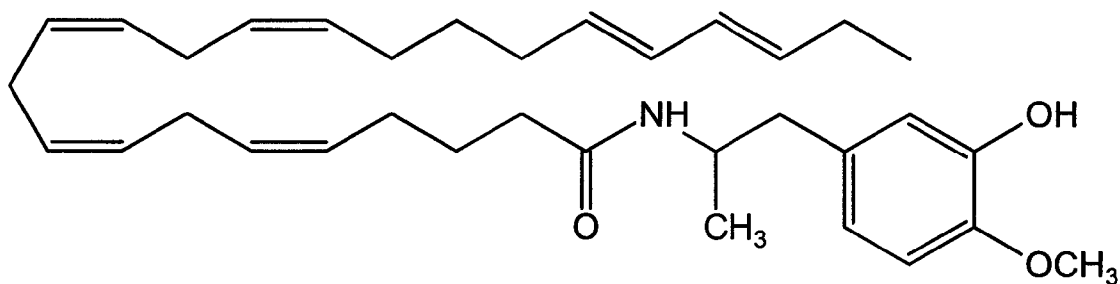
5

Fórmula (XII)



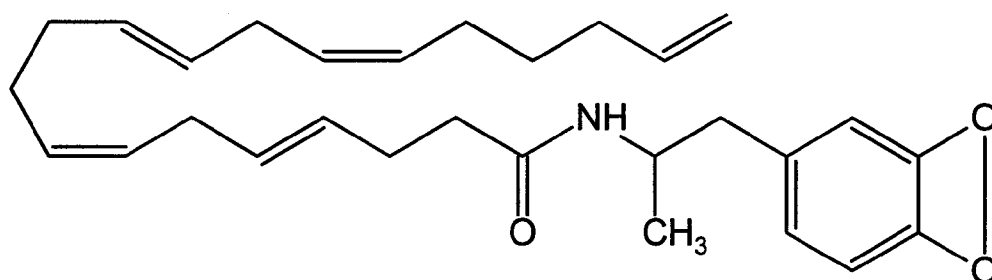
10

Fórmula (XIII)



15

Fórmula (XIV)



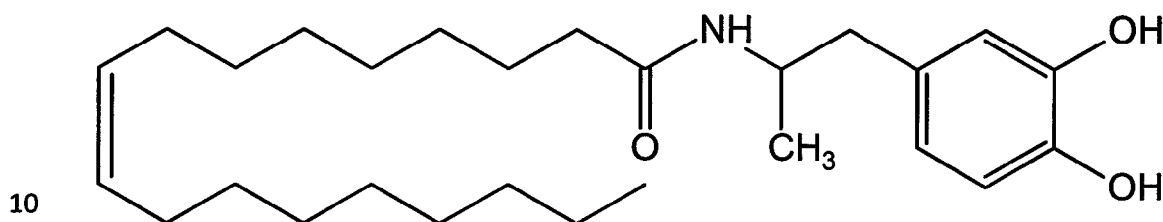
20

Fórmula (XV)

25

o cualquiera de sus sales, ésteres, tautómeros, solvatos e hidratos farmacéuticamente aceptables.

16. El uso del compuesto de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, donde el  
5 compuesto es la *N*-(1-(3,4-dihidroxifenil)propan-2-il)oleamida (OLHHA),



Fórmula (III)

o cualquiera de sus sales, ésteres, tautómeros, solvatos e hidratos farmacéuticamente aceptables.

15 17. El uso de una composición farmacéutica que comprende al menos uno de los compuestos de fórmula (I) como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16, o cualquiera de sus sales, ésteres, tautómeros, solvatos e hidratos farmacéuticamente aceptables, o  
20 cualquiera de sus combinaciones, en la elaboración de un medicamento para la prevención, alivio y/o tratamiento del hígado graso o de una enfermedad o condición patológica causada por hígado graso.

18. El uso de una composición de conformidad con  
25 la reivindicación 17, donde la enfermedad causada por

hígado graso es la esteatohepatitis.

19. El uso de una composición que comprende al menos uno de los compuestos de fórmula (I) como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16, o cualquiera de sus sales, ésteres, tautómeros, solvatos e hidratos farmacéuticamente aceptables, o cualquiera de sus combinaciones, en la elaboración de un medicamento para la prevención, alivio y/o tratamiento de una enfermedad o condición patológica causada por hígado graso no alcohólico (NAFLD).

20. El uso de una composición de conformidad con la reivindicación 19, donde la enfermedad causada por hígado graso no alcohólico (NAFLD) es la esteatohepatitis no alcohólica (NASH).

21. El uso de una composición farmacéutica de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 17 a 20, donde la composición además comprende otro principio activo.

22. El uso de una composición farmacéutica de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 17 a 20, donde la composición además comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable.

23. Una composición alimentaria, nutracéutica o del tipo alimento médico (del inglés "medical food") que comprende al menos uno de los compuestos de fórmula (I) como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a

16.

24. El uso de la composición alimentaria de conformidad con la reivindicación anterior, para la prevención, alivio y/o tratamiento del hígado graso o de una enfermedad o condición patológica causada por hígado graso.

25. El uso de la composición alimentaria de conformidad con la reivindicación 24, donde la enfermedad causada por hígado graso es la esteatohepatitis.

10 26. El uso de la composición alimentaria de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 23 a 24, para la prevención, alivio y/o tratamiento una enfermedad o condición patológica causada por hígado graso no alcohólico (NAFLD).

15 27. El uso de la composición alimentaria de conformidad con la reivindicación 26, donde la enfermedad causada por hígado graso no alcohólico (NAFLD) es la esteatohepatitis no alcohólica (NASH).

**RESUMEN DE LA INVENCION**

Uso de amidas de ácidos grasos con fenilalquilaminas y de una composición farmacéutica que comprende al menos uno de estos compuestos en la prevención  
5 y/o tratamiento del hígado graso o de una enfermedad o condición patológica causada por hígado graso, alcohólico o no alcohólico y, en particular, para la prevención y/o tratamiento de la esteatohepatitis alcohólica o esteatohepatitis no alcohólica (NASH).

Zucker delgado

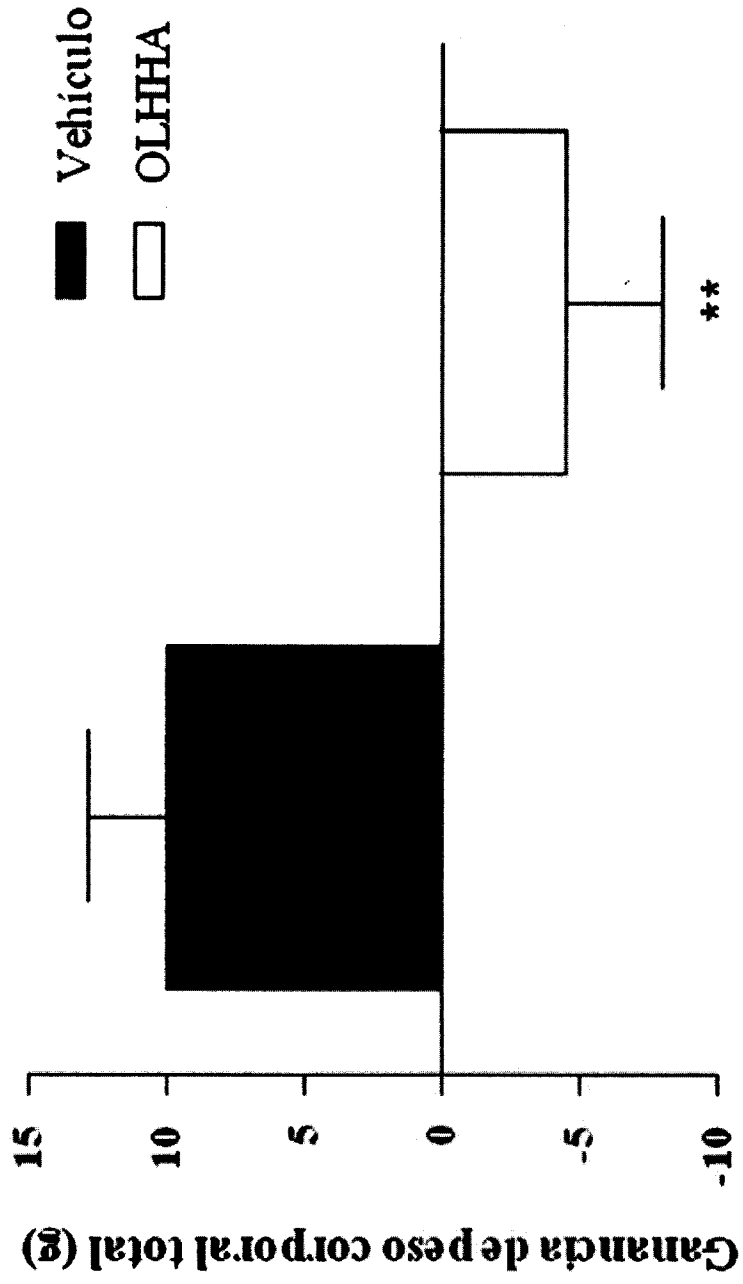


Figura 1A

Zucker delgado

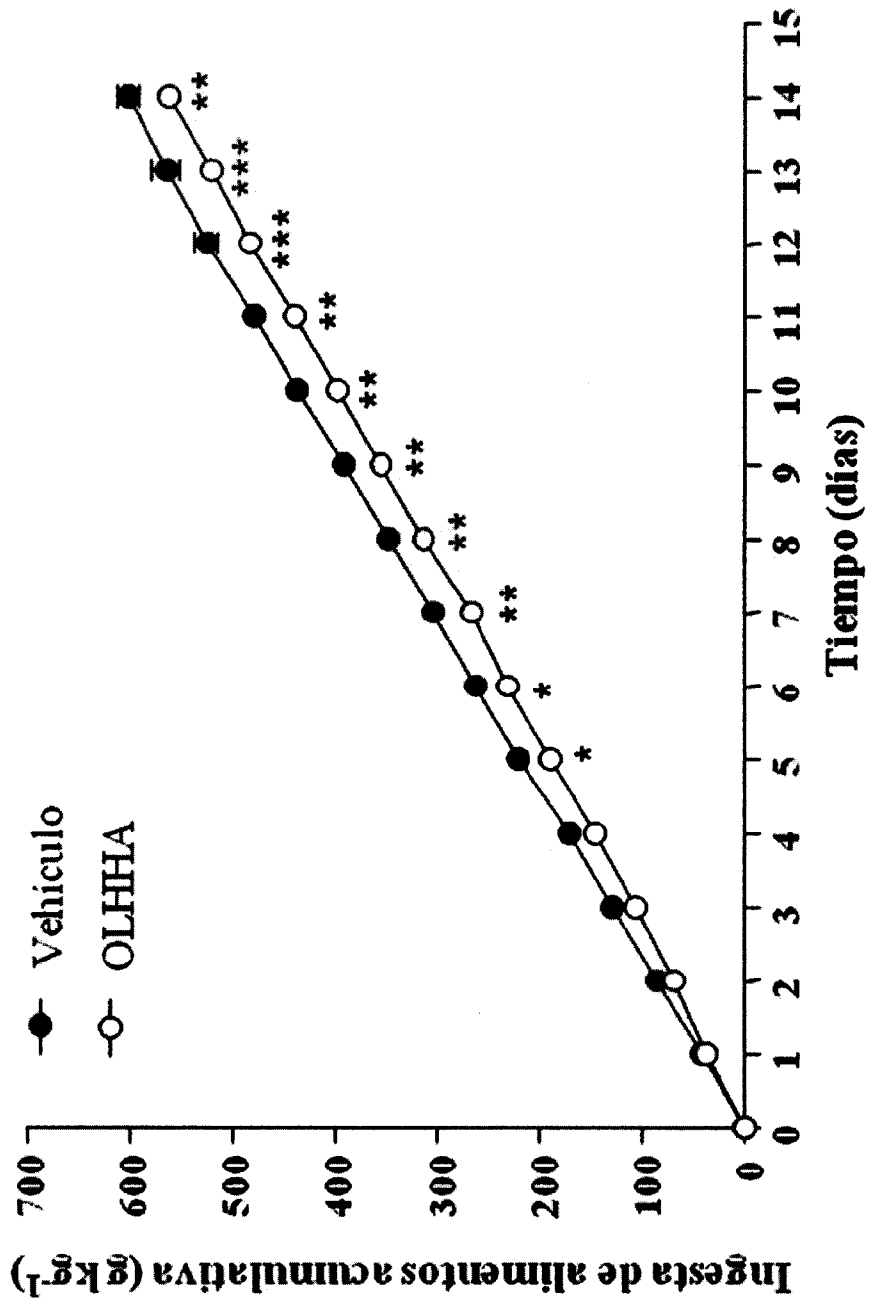
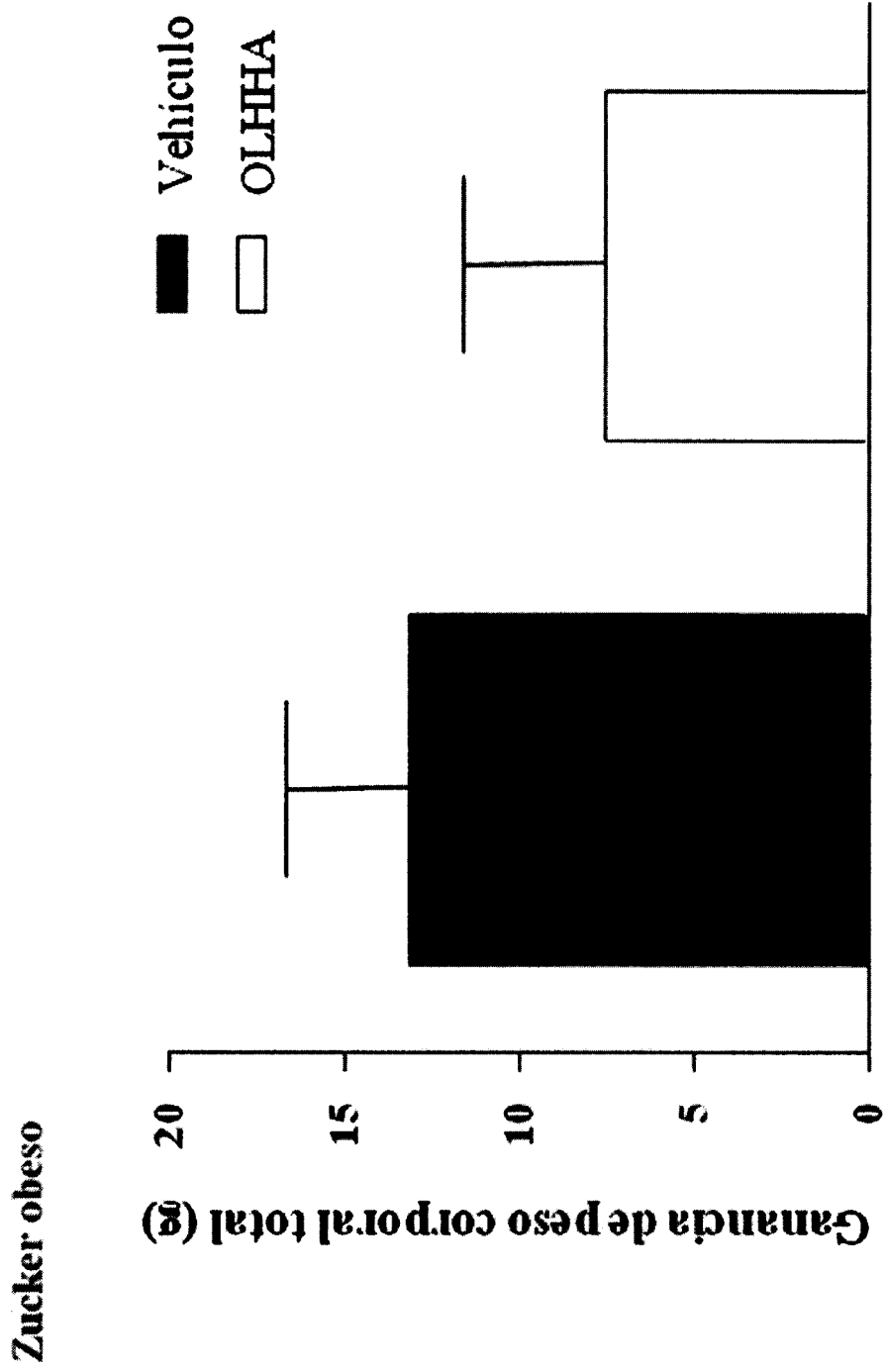
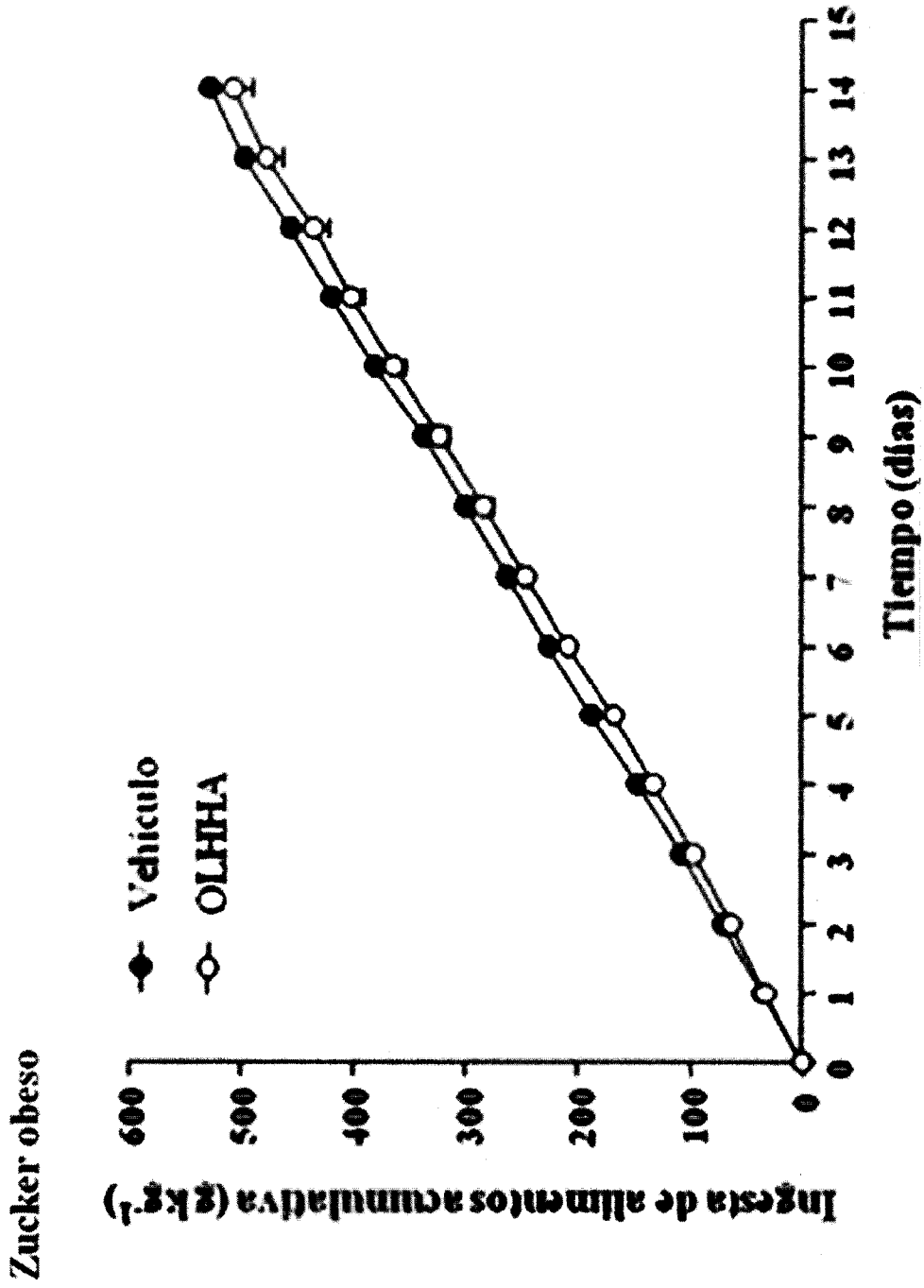


Figura 1B





**Figura 1C**



**Figura 1D**

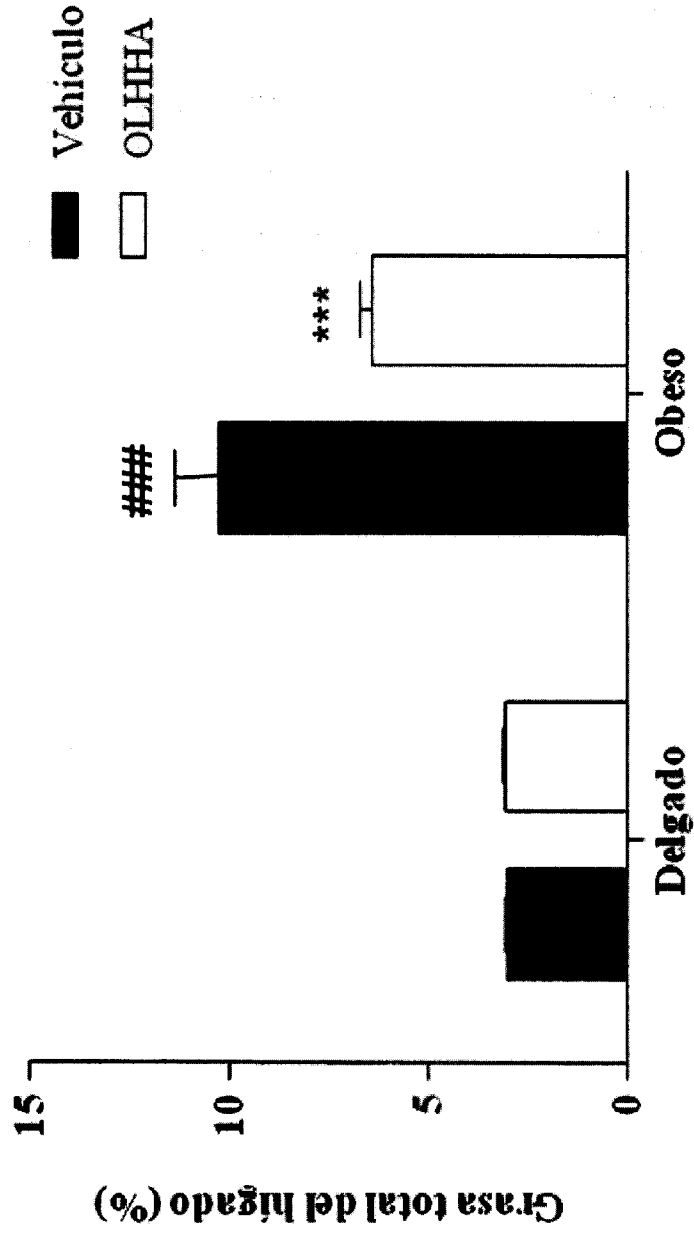


Figura 2A

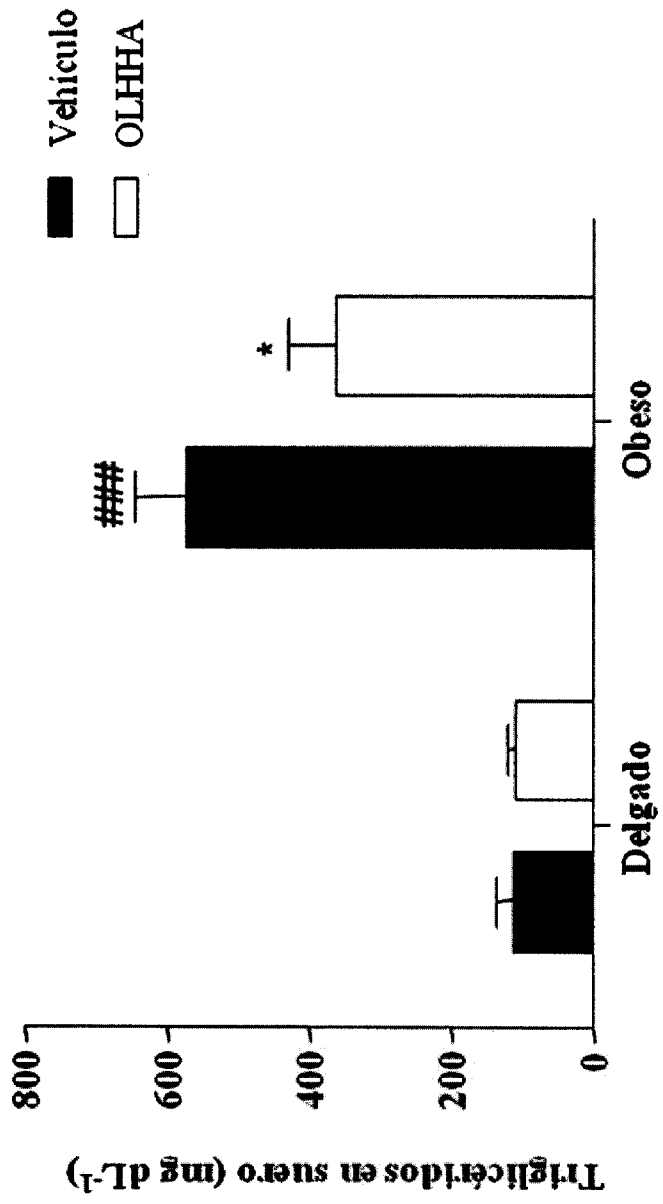


Figura 2B

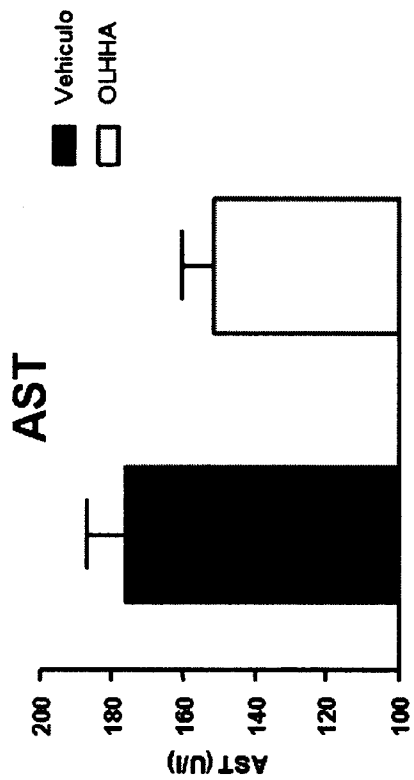


Figura 3B

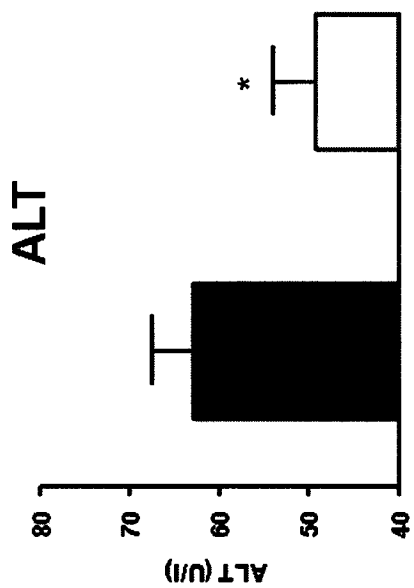


Figura 3A

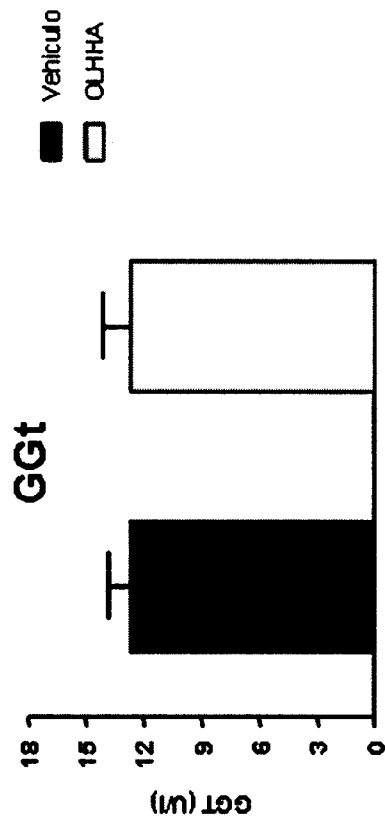


Figura 3C

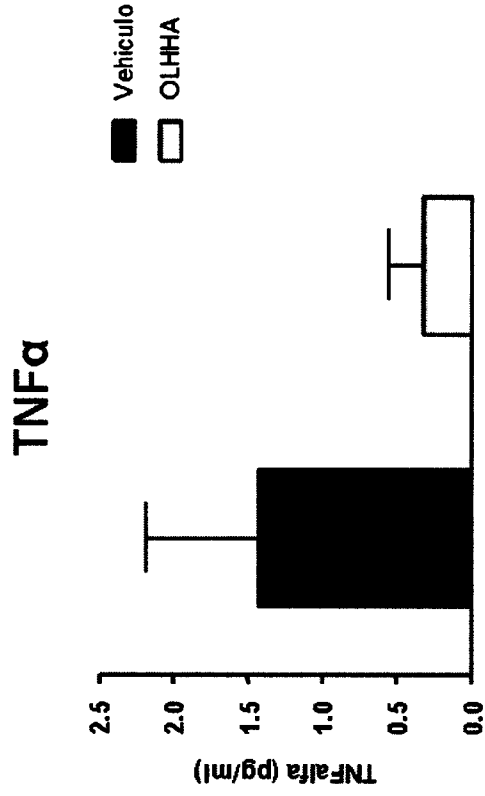


Figura 4B

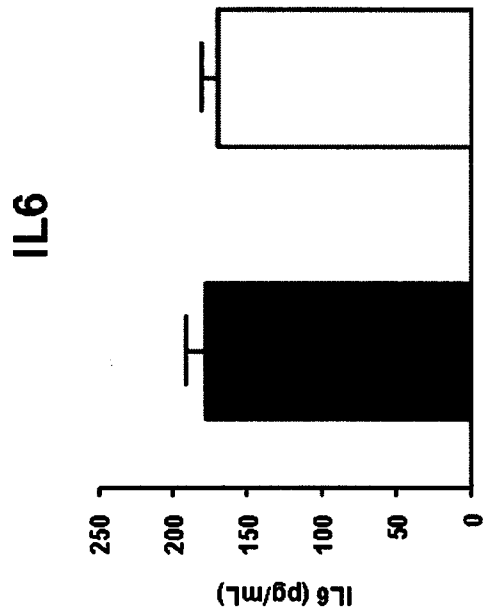


Figura 4A

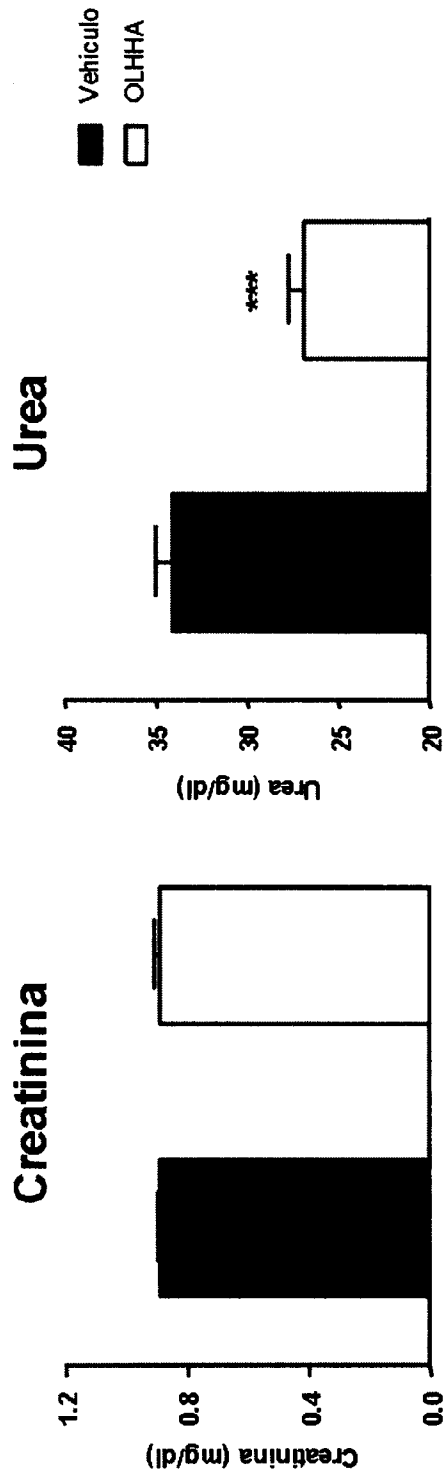


Figura 5B

Figura 5A



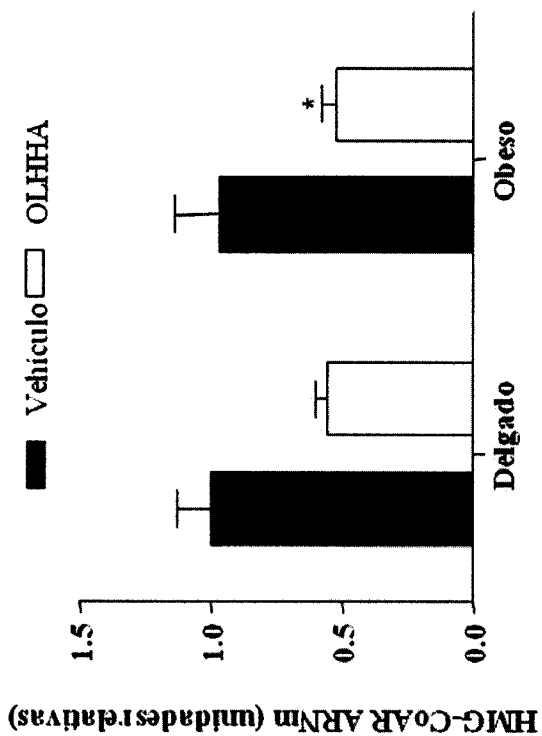


Figura 6B

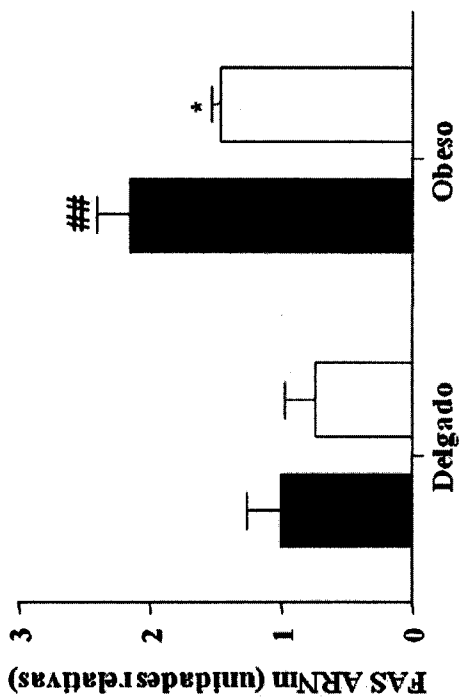


Figura 6A

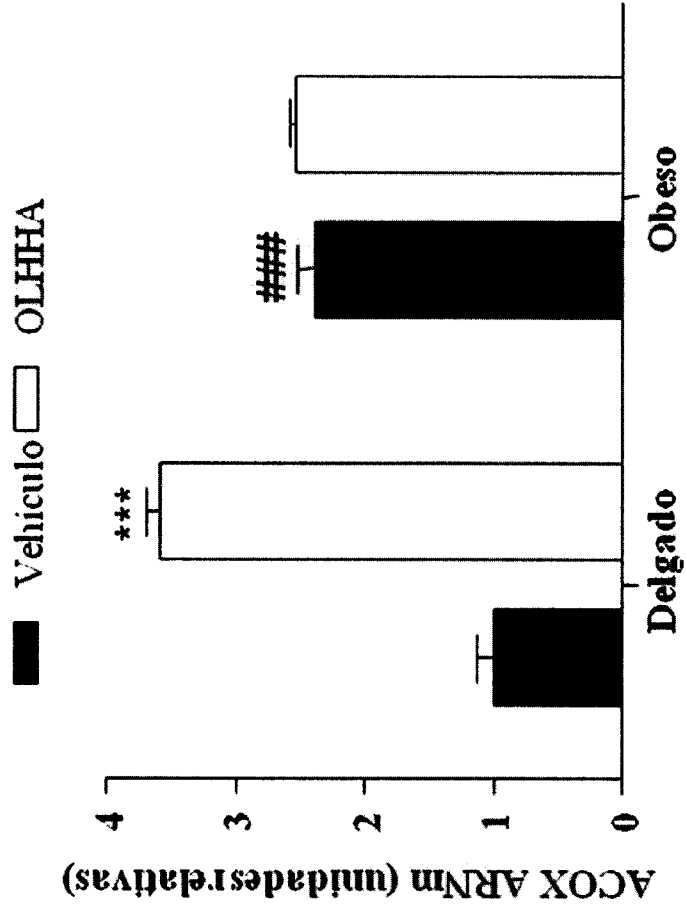


Figura 6C

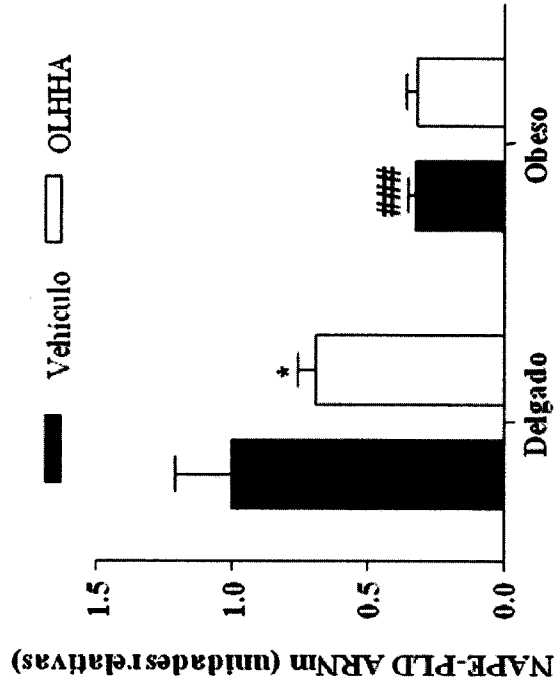


Figura 7B

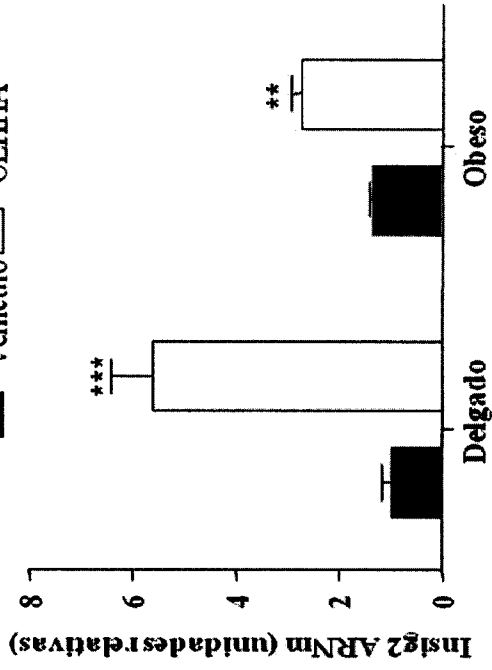


Figura 7A

Inhibidores control estándar	IC50 $\mu\text{M}$
Amiodarona	$1,7 \pm 0,2$
Bepiridil	$2,2 \pm 0,3$
Haloperidol	$1,9 \pm 0,1$
Terfenadina	$1,0 \pm 0,3$
OLHHA	$>150$

**Figura 8A**

Compound ID:	OLHHA
0.073 $\mu\text{M}$ :	-9.199
0.146 $\mu\text{M}$ :	-9.349
0.293 $\mu\text{M}$ :	3.833
0.586 $\mu\text{M}$ :	6.133
1.172 $\mu\text{M}$ :	12.72
2.344 $\mu\text{M}$ :	2.268
4.688 $\mu\text{M}$ :	5.583
9.375 $\mu\text{M}$ :	6.449
18.75 $\mu\text{M}$ :	4.114
0.038 mM:	9.289
0.075 mM:	10.78
0.15 mM:	10.01

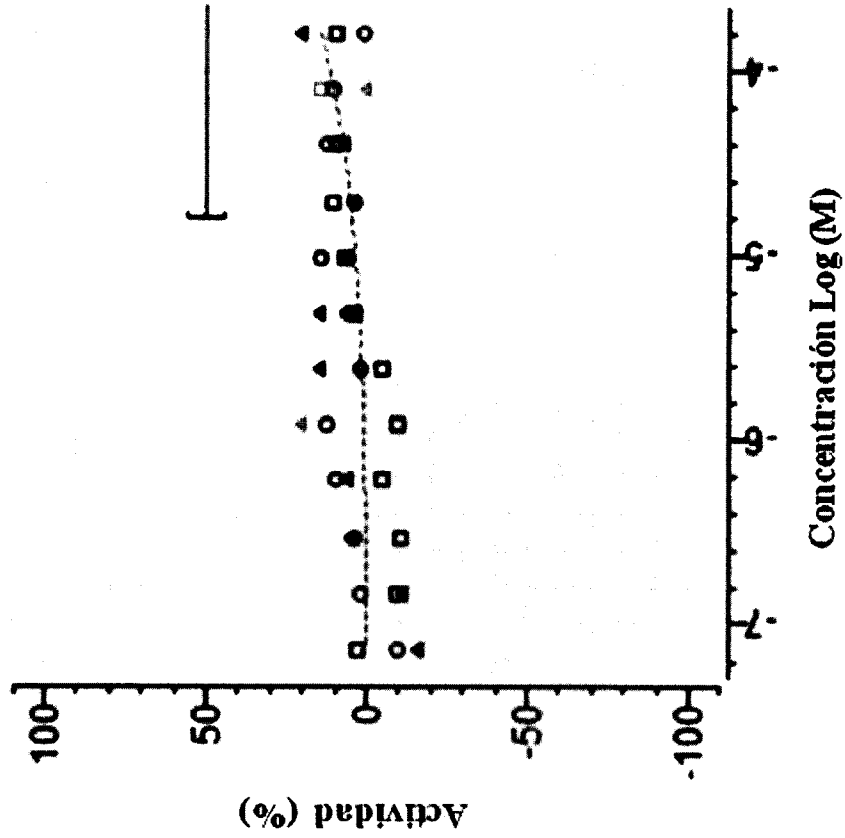
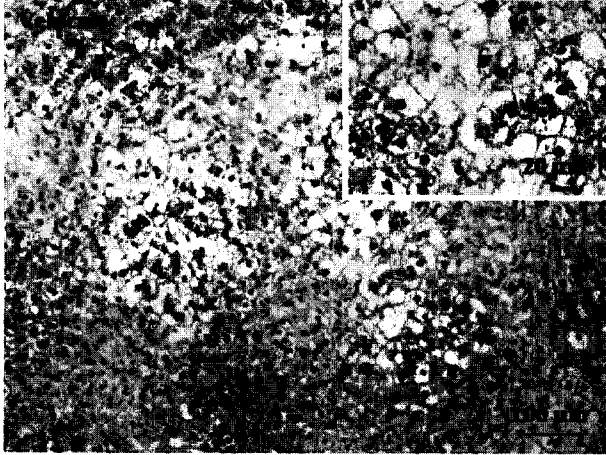
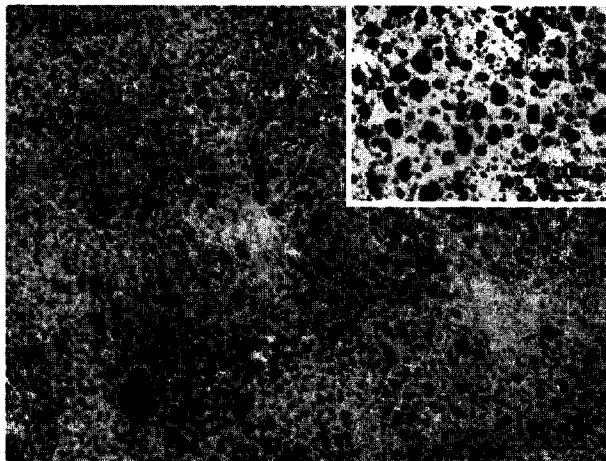
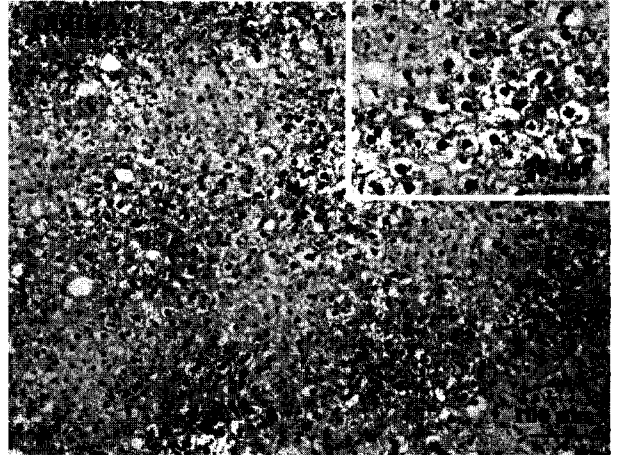


Figura 8B

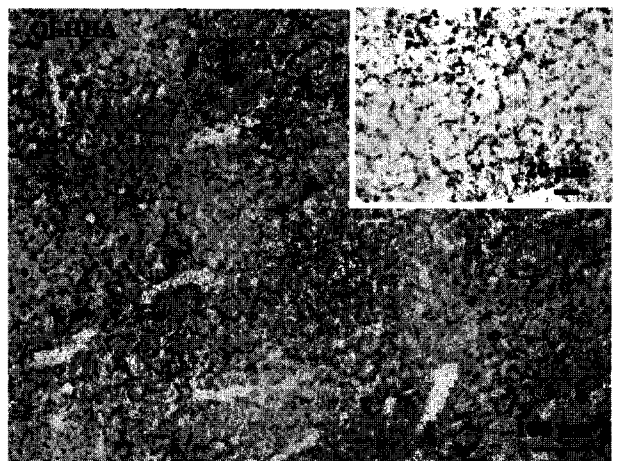
**Figura 9A**



**Figura 9B**



**Figura 9C**



**Figura 9D**

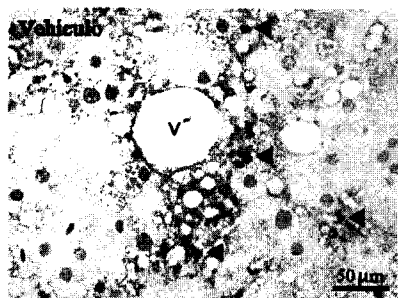


Figura 10A

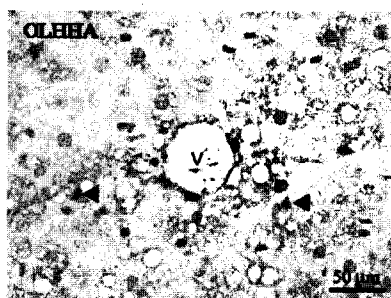


Figura 10B

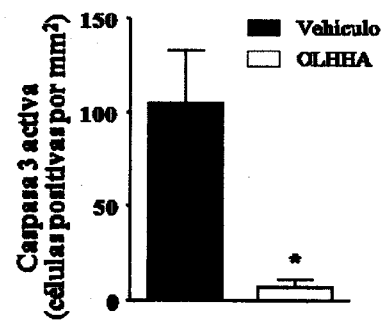


Figura 10C

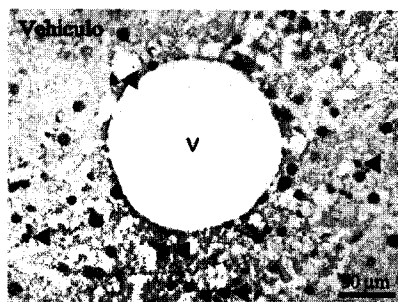


Figura 10D

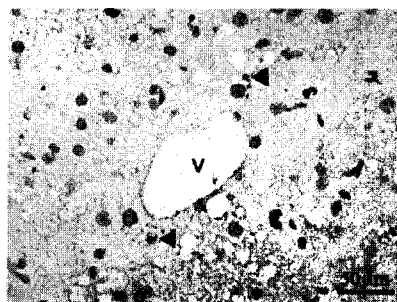


Figura 10E

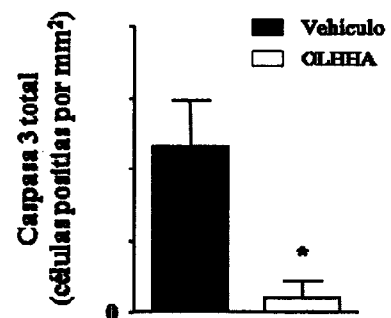
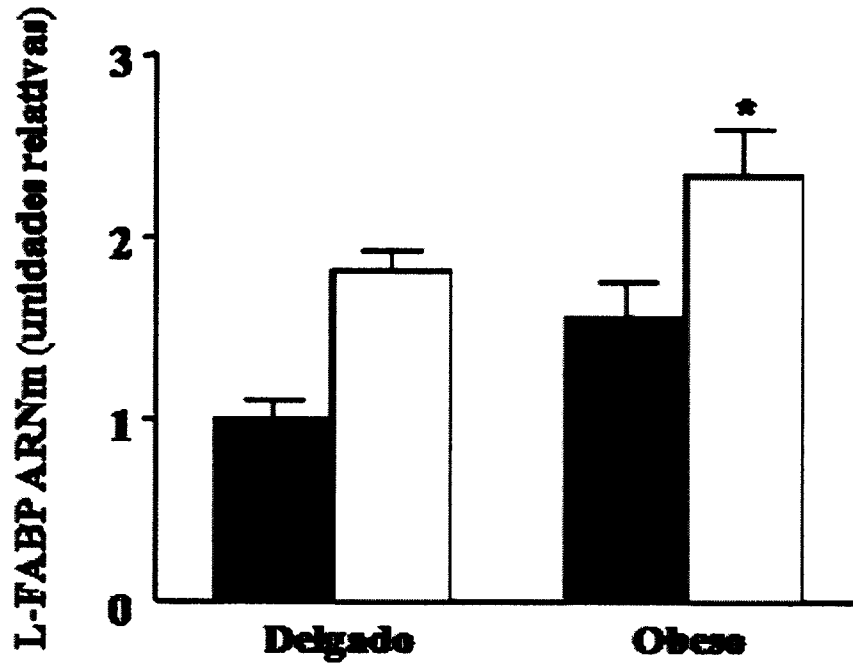


Figura 10F

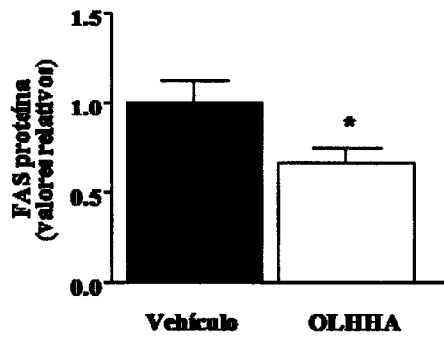
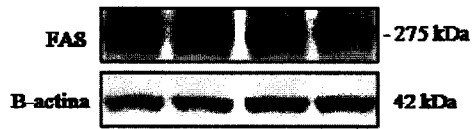
**A**



**Figura 11**

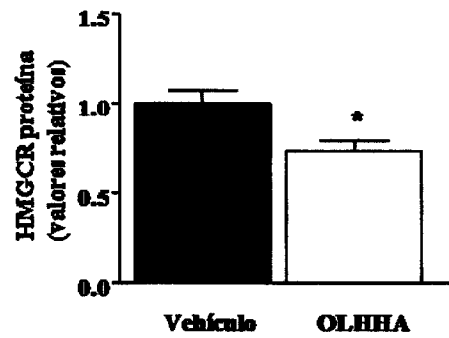


**Ratas Zucker obesas**



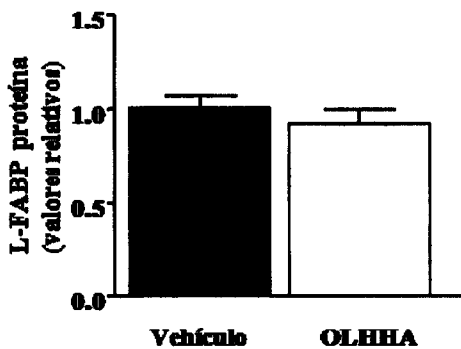
**Figura 12A**

**Ratas Zucker obesas**



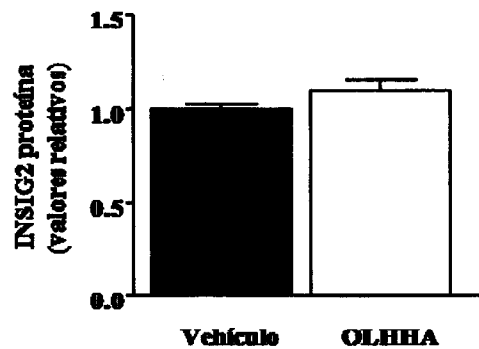
**Figura 12B**

**Ratas Zucker obesas**



**Figura 12C**

**Ratas Zucker obesas**



**Figura 12D**