

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 974 247**

51 Int. Cl.:

A61K 31/164 (2006.01)

A61P 3/04 (2006.01)

C07C 231/02 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

C07C 231/20 (2006.01)

A61K 31/047 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.05.2022** **E 22174110 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.12.2023** **EP 4094757**

54 Título: **Composición de aciletanolamidas a partir de ácidos grasos del aceite de oliva**

30 Prioridad:

28.05.2021 IT 202100014006

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

26.06.2024

73 Titular/es:

EPITECH GROUP S.P.A. (100.0%)

Via Egadi 7

20144 Milano (MI), IT

72 Inventor/es:

DELLA VALLE, FRANCESCO;

DELLA VALLE, MARIA FEDERICA;

MARCOLONGO, GABRIELE y

GOMIERO, CHIARA

74 Agente/Representante:

LINAGE GONZÁLEZ, Rafael

ES 2 974 247 T3

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

DESCRIPCIÓN

Composición de aciletanolamidas a partir de ácidos grasos del aceite de oliva

5 **Campo técnico de la invención**

La presente invención se refiere a una composición de aciletanolamidas obtenidas a partir de ácidos grasos del aceite de oliva y el uso de la misma en el tratamiento de la neuroinflamación.

10 **Técnica anterior**

Una de las afecciones patológicas más comunes asociadas con la neuroinflamación de bajo grado tanto en humanos como en animales es la obesidad. La obesidad es una afección patológica crónica caracterizada por el depósito excesivo y anómalo de grasa (Organización Mundial de la Salud, 2017) que afecta a seres humanos pero también a animales domésticos: de hecho, hasta la fecha es la enfermedad nutricional más común en perros con una incidencia que varía entre un 24 % y un 44 % de los animales sometidos a controles veterinarios.

Varias pruebas experimentales han demostrado que la obesidad se caracteriza por un estado de inflamación de bajo grado crónica provocada por la producción de diferentes mediadores de inflamación. En esta afección patológica, actualmente se establece que los mastocitos participan activamente en la aparición y mantenimiento de la inflamación de bajo grado crónica en tejido adiposo liberando quimiocinas (CCL2, CXCL8), citocinas (IL-6, IL-8 y TNF- α) que conjuntamente con adipocitocinas proinflamatorias (leptina, adiponectina y otras moléculas) liberadas del propio tejido adiposo, inducen y mantienen un estado neuroinflamatorio permanente que tiende a no resolverse. Se considera que dicho estado neuroinflamatorio de este tipo es responsable del desarrollo de varias enfermedades crónicas y/o degenerativas tales como, entre otras, artrosis, artritis reumatoide, cardiovasculopatías, enteropatías inflamatorias, enfermedad de Alzheimer y demencia vascular tanto en seres humanos como animales.

En la obesidad, la sobreproducción de adipocitocinas influye negativamente en múltiples funciones tales como apetito y balance calórico, sensibilidad/resistencia a la insulina, reclutamiento de células inmunitarias en tejido adiposo y angiogénesis, mientras que la liberación masiva de citocinas por los mastocitos desgranulados amplifica el proceso neuroinflamatorio.

Hasta la fecha, un tratamiento eficaz para la pérdida de peso es la asociación entre una dieta equilibrada y actividad física: sin embargo, aunque útil para la pérdida de peso de personas y animales, este protocolo no puede atenuar, hasta el punto de "extinguir", inflamación de bajo grado crónica provocada principalmente por la desgranulación de mastocitos excesiva y no regulada.

Por tanto, es de fundamental importancia tener moléculas disponibles con propiedades antineuroinflamatorias que puedan submodular la producción de factores proneuroinflamatorios liberados por los mastocitos activados.

Aunque la palmitoiletanolamida es una molécula conocida por la actividad de la misma en la regulación de la desgranulación de mastocitos, se ha comprobado que es sustancialmente ineficaz en este tipo de manifestación neuroinflamatoria, aunque no en dosis bastante altas.

El documento US 2019/365675 divulga una aciletanolamida, preferentemente oleoiletanolamida (OEA), palmitoiletanolamida (PEA), estearoiletanolamida (SEA), para su uso en el tratamiento de neuroinflamación y neurotoxicidad provocada por el consumo de alcohol. Los compuestos no se coadministran. El documento WANG XIAOSAN ET AL.: "Scalable synthesis of oleoyl ethanolamide by chemical amidation in a mixed solvent" ["Síntesis escalable de oleoiletanolamida por amidación química en un disolvente mixto"], JOURNAL OF THE AMERICAN OIL CHEMISTS SOCIETY, SPRINGER, DE, vol. 93, n.º 1, 12 de noviembre de 2015 (12-11-2015), páginas 125-131, divulga la síntesis de oleoiletanolamida por amidación química con aceite natural usado como donante de acilo en presencia de metóxido de sodio.

55 **Sumario de la invención**

La presente invención surge del sorprendente descubrimiento de que una composición obtenida por aminólisis directa de los ácidos grasos contenidos en el aceite de oliva puede determinar una clara sinergia de las moléculas de aciletanolamida (en particular OEA y PEA) con respecto a las correspondientes acilamidas puras, para contrarrestar fenómenos neuroinflamatorios mediados por la hiperreactividad de los mastocitos y por tanto por el incremento de los mismos a nivel tisular. Dicha actividad se puede relacionar en particular con los fenómenos neuroinflamatorios que son detectables en una población de sujetos que padecen obesidad.

Por lo tanto, la presente invención se refiere a una composición de aciletanolamida como se define a continuación, que comprende (porcentajes en peso):

65

- oleoiletanolamida (OEA) C18:1	60-65 %
- palmitoiletanolamida (PEA) C16:0	5-20 %
- linoleoiletanolamida (LEA) C18:2	5-20 %
- estearoiletanolamida (SEA) C18:0	1-2 %
- palmitoleoiletanolamida (POEA) C16:1	0,1-0,8 %
- miristoiletanolamida (MEA) C14:0	0,02-0,15 %
- mezcla de glicéridos	4-6 %
- glicerol	6-8 %.

La invención se refiere además a un procedimiento de aminólisis no catalizada directa en ausencia de disolvente a partir de aceite de oliva con 2-aminoetanol, que comprende las siguientes etapas:

- 5 a) mezclar aceite de oliva con 2-aminoetanol;
- b) calentar la mezcla de la etapa a) hasta una temperatura de entre 120 °C y 160 °C;
- 10 c) separar una composición de aciletanolamida obtenida por tanto en forma de un sólido ceroso;
- d) opcionalmente, absorber la composición de aciletanolamida de la etapa c) sobre sílice amorfa porosa, obteniendo por tanto un compuesto de adsorción de composición de aciletanolamida/sílice amorfa porosa.

15 Por lo tanto, la presente invención también se refiere a una composición de aciletanolamida como se define a continuación para su uso en el tratamiento de neuroinflamación de bajo grado, en particular en pacientes que padecen obesidad, es decir, el uso de dicha composición de aciletanolamida para la preparación de un medicamento para tratar dichas enfermedades.

20 Estos y otros objetivos, como se explica en las reivindicaciones adjuntas, se describirán en la siguiente descripción. Otros rasgos característicos y ventajas de la invención resultarán evidentes a partir de la siguiente descripción de modos de realización preferentes, dados a modo de ejemplos.

25 Breve descripción de los dibujos

La figura 1 muestra un gráfico del incremento en el volumen de la pata del animal tratado frente a mediciones de tiempo después del tratamiento; los valores mostrados en el gráfico representan el promedio ± EEM. Prueba ANOVA unidireccional: ** p < 0,01 frente a CAR, *** p < 0,001 frente a CAR;

30 La figura 2 muestra un gráfico del tiempo de retención (*prueba plantar*) de la pata del animal tratado frente a mediciones de tiempo después del tratamiento; los valores mostrados en el gráfico representan el promedio ± EEM. Prueba ANOVA unidireccional: * p < 0,05 frente a CAR, ** p < 0,01 frente a CAR, *** p < 0,001 frente a CAR;

35 La figura 3 muestra un gráfico abreviado de los análisis histológicos realizados con E/E; ND = no detectable, de izquierda a derecha, respectivamente, vehículo-CAR, CAR + PEA 2 mg/kg, CAR + OEA 6 mg/kg, CAR + complejo de aciletanolamida/sílice amorfa porosa; los valores mostrados en el gráfico representan el promedio ± EEM. Prueba ANOVA unidireccional: *** p < 0,001 frente a referencia, ### p < 0,001 frente a CAR;

40 La figura 4 muestra un gráfico abreviado (presentado como una puntuación) de un análisis de mastocitos en tejido; los valores mostrados en el gráfico representan el promedio ± EEM. Prueba ANOVA unidireccional: *** p < 0,001 frente a referencia, ### p < 0,001 frente a CAR.

45 Descripción detallada de la invención

En un primer aspecto, la presente invención se refiere a una composición de aciletanolamida que comprende (porcentajes en peso):

- oleoiletanolamida (OEA) C18:1	60-65 %
- palmitoiletanolamida (PEA) C16:0	5-20 %

ES 2 974 247 T3

- linoleiletanolamida (LEA) C18:2	5-20 %
- estearoiletanolamida (SEA) C18:0	1-2 %
- palmitoleoiletanolamida (POEA) C16:1	0,1-0,8 %
- miristoiletanolamida (MEA) C14:0	0,02-0,15 %
- mezcla de glicéridos	4-6 %
- glicerol	6-8 %.

La composición de la invención, aunque se caracteriza por un contenido en OEA mayor que o igual a un 60 % en peso, puede tener una variabilidad del contenido en PEA y LEA dependiendo del origen del aceite de oliva o de la variedad de la planta de la que se origina.

5

Preferentemente, en un modo de realización la composición de la invención comprende (porcentajes en peso):

- oleoiletanolamida (OEA) C18:1	61-63 %
- palmitoiletanolamida (PEA) C16:0	17-19 %
- linoleiletanolamida (LEA) C18:2	5-5,7 %
- estearoiletanolamida (SEA) C18:0	1,2-1,70
- palmitoleoiletanolamida (POEA) C16:1	0,3-0,5 %
- miristoiletanolamida (MEA) C14:0	0,03-0,11 %
- mezcla de glicéridos	5-5,5 %
- glicerol	7-7,5 %.

En un modo de realización diferente, la composición de la invención comprende (porcentajes en peso):

10

- oleoiletanolamida (OEA) C18:1	61-63 %
- palmitoiletanolamida (PEA) C16:0	7-12 %
- linoleiletanolamida (LEA) C18:2	8-15 %
- estearoiletanolamida (SEA) C18:0	1,2-1,70
- palmitoleoiletanolamida (POEA) C16:1	0,3-0,5 %
- miristoiletanolamida (MEA) C14:0	0,03-0,11 %
- mezcla de glicéridos	5-5,5 %
- glicerol	7-7,5 %.

La composición de acuerdo con la invención, que contiene los componentes antes mencionados, también se denominará a continuación "complejo de aciletanolamida" por razones de brevedad, en la que el término "complejo de aciletanolamida", como se usa para los propósitos de la presente invención, quiere decir un conjunto de componentes en los que las aciletanolamidas forman la parte predominante de la composición.

15

La composición de acuerdo con la invención se puede obtener a partir de aceite de oliva por aminólisis no catalizada directa en ausencia de disolvente con 2-aminoetanol.

20

Más en particular, el procedimiento de acuerdo con la invención comprende las siguientes etapas:

a) mezclar aceite de oliva con 2-aminoetanol;

b) calentar la mezcla de la etapa a) hasta una temperatura de entre 120 °C y 160 °C;

25

c) separar la composición o complejo de aciletanolamida de la invención en forma de un sólido ceroso;

d) opcionalmente, absorber la composición o complejo de aciletanolamida de la etapa c) sobre sílice amorfa porosa, obteniendo por tanto un compuesto de adsorción de composición de aciletanolamida/sílice amorfa porosa.

5

La composición de la invención puede variar, en particular en cuanto al contenido en PEA y LEA, dependiendo del aceite de oliva usado.

10

A continuación se muestran las composiciones promedio típicas de aceite de oliva del cultivo de olivo en países de la Unión Europea (aceite de oliva A) y del aceite de oliva del cultivo de olivo en Italia (aceite de oliva B).

Aceite de oliva A - intervalo de composición en los principales ácidos grasos del aceite de oliva (reg. CE 1989/03):

- Ácido mirístico (C14:0)	< 0,1 %
- Ácido palmítico (C16:0)	7,5-20 %
- Ácido palmitoleico (C16:1)	0,3-3,5 %
- Ácido esteárico (C18:0)	0,5-5,0 %
- Ácido oleico (C18:1)	55-83 %
- Ácido linoleico (C18:2)	2,5-21 %

15

Aceite de oliva B - composición típica (promedio de 1050 muestras) en los principales ácidos grasos del aceite de oliva italiano (base de datos nacional italiana de aceite de oliva virgen extra monovarietal - 2013 DOI:10.5772/51772):

- Ácido mirístico (C14:0)	< 0,1 %
- Ácido palmítico (C16:0)	12 %
- Ácido palmitoleico (C16:1)	1,1 %
- Ácido esteárico (C18:0)	2,2 %
- Ácido oleico (C18:1)	730
- Ácido linoleico (C18:2)	10,3 %.

20

La etapa a) se lleva a cabo preferentemente a temperatura ambiente. La proporción en peso de aceite de oliva con respecto a 2-etanolamina está preferentemente entre 100:13 y 100:22, más preferentemente entre 100:15 y 100:20, incluso más preferentemente entre 100:16 y 100:18. La cantidad de 2-aminoetanol usada es por tanto menor que la estequiométrica para conseguir mantener el producto de semisíntesis, conjuntamente con el glicerol liberado en la reacción, también una porción de monoglicéridos útiles para mejorar la biodisponibilidad del complejo de aciletanolamida formado.

25

Preferentemente, la etapa a) se lleva a cabo en una atmósfera de gas inerte, por ejemplo bajo nitrógeno.

30

La etapa b) se lleva a cabo preferentemente a una temperatura de entre 130 °C y 150 °C, más preferentemente entre 135 °C y 145 °C y preferentemente durante un tiempo de más de 2 horas, más preferentemente más de 3 horas y menos de 5 horas.

35

La etapa c) se lleva a cabo preferentemente por enfriamiento lento hasta temperatura ambiente.

40

La etapa d) se lleva a cabo preferentemente fundiendo el complejo de aciletanolamida de la etapa c) a una temperatura de entre 70 °C y 90 °C y a continuación añadiendo sílice amorfa porosa. La proporción en peso de complejo de aciletanolamida/sílice amorfa porosa está preferentemente entre 0,9:1 y 1,1:1, más preferentemente es aproximadamente 1:1.

45

Como se ilustrará mejor por los experimentos biológicos y gráficos relacionados a continuación, la composición de aciletanolamida de acuerdo con la invención ha demostrado, en modelos animales de neuroinflamación y en evaluaciones de tejido, un efecto sinérgico significativo en comparación con la administración de los compuestos individuales PEA y OEA (que forman la parte predominante de la composición) administrados a la misma dosificación. Dicho efecto sinérgico se puede relacionar con la combinación en una única composición de PEA y

OEA, pero también con la presencia en la misma composición de otras aciletanolamidas, así como de una cantidad no despreciable de monoglicéridos de ácidos grasos que mejoran la biodisponibilidad de la composición.

5 Por lo tanto, la invención se refiere además a la composición de aciletanolamida, como tal o en forma de un compuesto de adsorción de composición de aciletanolamida/sílice amorfa porosa, para su uso en el tratamiento de neuroinflamación de bajo grado, preferentemente en una población de pacientes que padecen obesidad.

Ejemplo químico (semisíntesis)

10 **Preparación de la composición de aciletanolamida (complejo de aciletanolamida)**

15 Se colocan 295,0 g de aceite de oliva de olivos cultivados en países de la Unión Europea en un matraz de vidrio provisto de agitador y refrigerante a reflujo. Se activa una saturación de nitrógeno para eliminar el oxígeno durante la semisíntesis. Se añaden 55,0 g de 2-aminoetanol a temperatura ambiente y bajo agitación, a continuación se eleva lentamente la temperatura (en aproximadamente 1 hora) hasta 140 °C con un baño de aceite; la cantidad de 2-aminoetanol usada es menor que la estequiométrica para conseguir mantener el producto de semisíntesis, conjuntamente con el glicerol que se libera en la reacción, también una porción de monoglicéridos útiles para mejorar la biodisponibilidad del complejo de aciletanolamida que se forma. El calentamiento se mantiene durante 4 horas siempre bajo flujo de nitrógeno. A continuación se enfría lentamente la mezcla de semisíntesis (temperatura ambiente alcanzada en aproximadamente 1 hora); se obtiene un sólido amarillento de consistencia cerosa. La composición del sólido obtenido (promedio de 5 semisíntesis) se muestra en la tabla 1 a continuación:

Tabla 1 - composición en peso del complejo de aciletanolamida

Oleoiletanolamida (C18:1) OEA	62,2 %
Palmitoiletanolamida (C16:0) PEA	18,3 %
Linoleiletanolamida (C18:2) LEA	5,4 %
Estearoiletanolamida (C18:0) MAR	1,5 %
Palmitoleoiletanolamida (C16:1) POEA	0,4 %
Miristoiletanolamida (C14: 0) MEA	≤0,1 %
Mezcla de glicéridos	5,2 %
Glicerol	7,3 %

25 El complejo de aciletanolamida obtenido por tanto se puede usar directamente para la preparación de formas líquidas para uso oral, mediante procesos de emulsificación adecuados; de forma alternativa se puede someter a lipoadsorción sobre sílice como se indica a continuación.

30 **Lipoadsorción de complejo de aciletanolamida sobre sílice**

35 Se funden 100 g de complejo de aciletanolamida a partir de la semisíntesis a 80 °C en un flujo de nitrógeno; después de la fusión, se añaden lentamente y bajo agitación 100 g de sílice amorfa porosa (Syloid XDP - Grace). Después de agitación intensa y prolongada, la masa obtenida se enfría lentamente hasta temperatura ambiente. Se obtiene un polvo homogéneo y fluido que se puede usar fácilmente para la preparación de formas farmacéuticas sólidas para uso oral.

Ejemplo biológico

40 El estudio se realizó en ratas Sprague-Dawley macho (200-235 g; Harlan, Nossan, Italia) alimentadas *ad libitum* y alojadas en jaulas con un ciclo de sueño/vigilia controlado. Antes del inicio de la experimentación, los animales se sometieron a un período de aclimatación de 1 semana considerando todos los procedimientos y protocolos experimentales, respetando los principios de cuidado de animales de laboratorio aprobados por el Ministerio de Salud italiano y respetando las directrices de la Comunidad Económica Europea.

45 Los animales se sometieron a una única inyección de 100 µl de solución salina que contenía un 1 % de carragenina (CAR) en una de las dos patas traseras. Se midió el edema de la pata con un pletismómetro (Ugo Basile, Comerio, Varese, Italia) (Salvemini D *et al.* Nitric oxide: A key mediator in the early and late phase of carrageenan-induced rat paw inflammation. Br. J. Pharmacol. 1996; 118: 829-838) antes de la inyección de CAR y después de la inoculación de la misma cada hora durante 6 h. Se evaluaron las respuestas hiperalgésicas al calor usando la *prueba plantar* con una latencia de corte de 20 s para evitar daño tisular. Las ratas se alojaron individualmente en compartimentos de plexiglas para aclimatarlas antes de someterlas a estimulación térmica. Se determinó el período

de latencia de suspensión de la pata inyectada por un circuito electrónico y los resultados se expresaron en segundos.

5 Se expresó el edema como un incremento en el volumen de pata (ml) después de la inyección de CAR con respecto al valor preinyección para todos los animales.

Los animales se aleatorizaron en 5 grupos de 10 animales cada uno:

10 Grupo 1: ratas no inyectadas con CAR en la pata trasera y tratadas *per os* con solución salina (referencia).

Grupo 2: ratas sometidas a una única inyección de CAR en la pata trasera y tratadas *per os* 30 minutos antes de la inyección de CAR con carboximetilcelulosa (CMC) al 2 %, vehículo usado para suspender las moléculas que se van a someter a prueba (CAR + vehículo).

15 Grupo 3: ratas sometidas a una única inyección de CAR en la pata trasera y tratadas *per os* 30 minutos antes de la inyección de CAR, con PEA natural (2 mg/kg) suspendida en CMC al 2 % (CAR + PEA 2 mg/kg).

20 Grupo 4: ratas sometidas a una única inyección de CAR en la pata trasera y tratadas *per os* 30 minutos antes de la inyección de CAR, con OEA (6 mg/kg) suspendida en CMC al 2 % (CAR + PEA 6 mg/kg).

25 Grupo 5: ratas sometidas a una única inyección de CAR en la pata trasera y tratadas *per os* 30 minutos antes de la inyección de CAR, con el compuesto de adsorción de composición de aciletanolamida/sílice amorfa porosa a 20 mg/kg suspendido en CMC al 2 % (CAR + complejo de aciletanolamida/sílice amorfa porosa 20 mg/kg correspondientes a 10 mg/kg de complejo de aciletanolamida).

Cabe destacar que la cantidad en peso de PEA y OEA en el complejo de aciletanolamida sometido a prueba fue de aproximadamente 6 mg y 2 mg por 10 mg de complejo de aciletanolamida, respectivamente, por tanto se usaron las mismas dosis para los compuestos individuales.

30 Los animales se sacrificaron 6 h después de la inyección de CAR. Se tomó el tejido de las patas, se fijó de inmediato con formaldehído al 10 % en solución salina a temperatura ambiente durante 24 h y se sometió a tinción histológica con hematoxilina/eosina (E/E). Se examinó la morfología de los cortes con un microscopio Axiovision Zeiss (Milán, Italia) y se asignaron varias puntuaciones de gravedad del daño tisular: 0 = sin inflamación; 1 = inflamación leve; 2 = inflamación leve/moderada; 3 = inflamación moderada; 4 = inflamación moderada/grave; 5 = inflamación grave.

35 Para evaluar la presencia de mastocitos, se tiñeron los cortes histológicos con azul de toluidina.

40 Resultados

1. El complejo de aciletanolamida lipoadsorbido sobre sílice amorfa porosa 20 mg/kg reduce el edema de la pata de animales inyectados con CAR.

45 La inyección de CAR en la pata trasera de los animales de experimentación provoca un incremento dependiente del tiempo significativo en el volumen de la pata trasera del animal (figura 1). El edema provocado por CAR se reduce significativamente solo por el tratamiento con complejo de aciletanolamida/sílice amorfa porosa, 20 mg/kg (columna blanca a la derecha) ya 1 h después de la inyección de CAR y en las posteriores mediciones de tiempo analizadas hasta el final del tiempo de experimento (6 h). No se observó una reducción significativa del edema en el grupo no tratado ni en los grupos de ratas tratadas solo con PEA 2 mg/kg y solo con OEA 6 mg/kg.

50 2. El complejo de aciletanolamida lipoadsorbido sobre sílice amorfa porosa 20 mg/kg puede reducir significativamente la hiperalgesia térmica.

55 La inyección de CAR intraplantar induce una hiperalgesia térmica dependiente del tiempo mantenida hasta el final del experimento (6 h). Solo la administración oral del complejo de aciletanolamida/sílice amorfa porosa, 20 mg/kg (columna blanca a la derecha) puede contrarrestar significativamente el desarrollo de hiperalgesia térmica inducida por CAR ya 1 h después de la inyección y en todas las mediciones de tiempo con respecto a la grupo tratado con el vehículo (figura 2). No se encontró ningún efecto analgésico en los grupos de animales tratados solo con PEA 2 mg/kg y solo con OEA 6 mg/kg.

60 3. El complejo de aciletanolamida lipoadsorbido sobre sílice amorfa porosa 20 mg/kg puede proteger y reducir significativamente el daño tisular de la pata de animales sometidos a inyección de CAR.

65 Para evaluar histológicamente los efectos antineuroinflamatorios del complejo de aciletanolamida/sílice amorfa porosa, los tejidos de las patas de cada grupo experimental se sometieron a tinción E/E. Los resultados se resumen

como puntuaciones en la figura 3. Como se espera, no se encontró daño tisular en las ratas de referencia. Por el contrario, la inyección de CAR en la pata del animal provoca un incremento evidente del daño tisular con respecto al grupo de animales sanos. La alteración del tejido se reduce significativamente por el tratamiento con complejo de aciletanolamida/sílice amorfa porosa 20 mg/kg (columna blanca a la derecha), mientras que las moléculas individuales de solo PEA 2 mg/kg y solo OEA 6 mg/kg no pueden proteger los tejidos de las patas de la acción neuroinflamatoria de CAR.

4. El complejo de aciletanolamida lipoadsorbido sobre sílice amorfa porosa 20 mg/kg puede reducir significativamente el número de mastocitos en el tejido de las patas de animales sometidos a inyección de CAR.

La tinción con azul de toluidina resalta la presencia de mastocitos en el tejido de las patas 6 horas después de la inducción del enema. Específicamente, las ratas inyectadas con CAR y tratadas con vehículo, solo con PEA 2 mg/kg y solo con OEA 6 mg/kg muestran un incremento significativo en el número de mastocitos con respecto al grupo de referencia. Por el contrario, el infiltrado de mastocitos se reduce significativamente solo por tratamiento con el complejo de aciletanolamida/sílice amorfa porosa 20 mg/kg. El gráfico de la figura 4 resume los datos (en forma de puntuaciones) obtenidos de la tinción con azul de toluidina.

Estos datos confirman la eficacia del complejo de aciletanolamida en una población de pacientes que padecen obesidad, una enfermedad en la que se produce un incremento en la desgranulación de mastocitos.

Además, la invención se refiere además a una formulación que comprende la composición (complejo de aciletanolamida) de la invención o el compuesto de adsorción de composición de aciletanolamida/sílice amorfa porosa, en el que la formulación está en formas farmacéuticas para administración oral, bucal, parenteral, rectal o transdérmica.

En particular, la composición de aciletanolamida como tal estará preferentemente en forma de una emulsión en formas farmacéuticas líquidas; por el contrario, el compuesto de adsorción de composición de aciletanolamida/sílice amorfa porosa se puede formular preferentemente en formas farmacéuticas sólidas.

Para la administración oral, las composiciones farmacéuticas se pueden encontrar, por ejemplo, en forma de comprimidos o cápsulas duras o blandas, preparadas de manera convencional con excipientes farmacéuticamente aceptables tales como agentes aglutinantes (por ejemplo, almidón de maíz pregelatinizado, polivinilpirrolidona o hidroxipropilmetilcelulosa); agentes de relleno (por ejemplo, lactosa, celulosa microcristalina o hidrogenofosfato de calcio); lubricantes (por ejemplo, estearato de magnesio, talco o sílice); disgregantes (por ejemplo, almidón de patata o glicolato sódico de almidón); o agentes inhibidores (por ejemplo, laurilsulfato de sodio). Los comprimidos se pueden recubrir a través de procedimientos bien conocidos en la técnica. Las preparaciones líquidas para administración oral pueden estar, por ejemplo, en forma de soluciones, jarabes o suspensiones o pueden ser productos liofilizados para reconstituirse, antes de su uso, con agua u otros vehículos adecuados. Dichas preparaciones líquidas se pueden preparar a través de procedimientos convencionales con aditivos farmacéuticamente aceptables tales como agentes de suspensión (por ejemplo, jarabe de sorbitol, derivados de celulosa o grasas hidrogenadas comestibles); agentes emulsionantes (por ejemplo, lecitina o goma arábiga); vehículos no acuosos (por ejemplo, aceite de almendras, ésteres oleosos, alcohol etílico o aceites vegetales fraccionados); y conservantes (por ejemplo, p-hidroxibenzoatos de metilo o propilo o ácido sórbico). La preparación también puede contener convenientemente saborizantes, tintes y agentes edulcorantes.

Las preparaciones para administración oral se pueden formular apropiadamente para permitir la liberación controlada del componente activo.

Para la administración bucal, las composiciones pueden estar en forma de comprimidos o pastillas formuladas de manera convencional, adaptadas a una absorción a nivel de la mucosa bucal. Las formulaciones bucales típicas son comprimidos para administración sublingual.

El complejo de aciletanolamida de la invención se puede formular para administración parenteral por inyección. Las formulaciones inyectables se pueden presentar como una única dosis, por ejemplo en viales, con un conservante añadido. Las composiciones pueden aparecer en esta forma como suspensiones, soluciones o emulsiones en vehículos oleosos o acuosos y pueden contener agentes de la formulación tales como agentes de suspensión, agentes estabilizantes y/o dispersantes. De forma alternativa, el constituyente activo se puede encontrar en forma de un polvo para reconstituirse, antes de su uso, con un vehículo adecuado, por ejemplo con agua estéril.

De acuerdo con la presente invención, el complejo de aciletanolamida también se puede formular de acuerdo con composiciones rectales tales como supositorios o enemas de retención, por ejemplo que contienen los componentes base de los supositorios comunes tales como manteca de cacao u otros glicéridos.

Además de las composiciones descritas anteriormente, el complejo de aciletanolamida también se puede formular como una preparación de depósito. Dichas formulaciones de acción prolongada se pueden administrar por implantación (por ejemplo, por vía subcutánea, transcutánea o intramuscular) o inyección intramuscular. Por ejemplo, se pueden formular con materiales hidrófobos o poliméricos apropiados (por ejemplo en forma de una emulsión en un aceite adecuado) o resinas de intercambio iónico o como derivados mínimamente solubles.

De acuerdo con la presente invención, la dosis de complejo de aciletanolamida sugerida para administración a un ser humano (con un peso corporal de aproximadamente 70 kg) es de 1 mg a 2 g o de 10 mg a 700 mg del ingrediente activo por dosis unitaria. La dosis unitaria se puede administrar, por ejemplo, de 1 a 4 veces al día. La dosis dependerá de la vía elegida para la administración. Se debe considerar que puede ser necesario variar continuamente la dosificación dependiendo de la edad y peso del paciente y también de la gravedad del cuadro clínico que se va a tratar. La dosis exacta y la vía de administración quedarán, en última instancia, a criterio del médico especialista o veterinario.

La invención se refiere además a composiciones dietéticas, complementos alimenticios, alimentos para propósitos médicos especiales (FSMP) y composiciones cosméticas (por ejemplo, en forma de crema) que comprenden el complejo de aciletanolamida de la invención.

"Alimentos para propósitos médicos especiales" quiere decir productos autorizados de acuerdo con la Directiva de la Comisión Europea para los Estados miembros n.º 1999/21/CE y siguientes. Dicho término se refiere a un producto **"destinado a satisfacer necesidades nutricionales particulares de personas afectadas por una enfermedad, trastorno o afección médica específica"** para curar o ayudar a curar la afección médica específica, asimilando por tanto este producto FSMP a un fármaco.

Las formulaciones de acuerdo con la invención se pueden preparar de acuerdo con procedimientos convencionales, tales como los descritos en Remington's Pharmaceutical Sciences Handbook, Mack Pub. Co., N.Y., USA, 17.ª edición, 1985.

La invención se describirá ahora además a través de los siguientes ejemplos de formulación.

Ejemplos de formulación

Ejemplo 1. Suspensión líquida para uso oral

por 100 ml:	
Composición (Complejo) de aciletanolamida	12,0 g
Dextrina de maíz	30 g
Celulosa microcristalina	1,35 g
Carboximetilcelulosa	0,65 g
Polisorbato 80	0,10 g
Ácido benzoico	0,08 g
Sorbato de potasio	0,10 g
Ácido cítrico	0,05 g
Agua	67,7 g

Ejemplo 2. Comprimido

por 1 comprimido:	
Composición (Complejo) de aciletanolamida/sílice amorfa porosa	600 mg
Celulosa microcristalina	250 mg
Carboximetilcelulosa de sodio reticulada	80 mg
Hidroxipropilcelulosa	20 mg
Polisorbato 80	5 mg
Estearato de magnesio	6 mg

por 1 comprimido:

Dióxido de silicio 10 mg

Ejemplo 3. Comprimido para uso veterinario

por 1 comprimido:

Composición (Complejo) de acietanolamida/sílice amorfa porosa 600 mg

Potenciador de palatabilidad F20729 85 mg

Celulosa microcristalina 140 mg

Carboximetilcelulosa de sodio reticulada 54 mg

Dibehenato de glicerilo 90 mg

Hidroxipropilcelulosa 20 mg

Polisorbato 80 5 mg

Estearato de magnesio 6 mg

5 **Ejemplo 4. Cápsula de gelatina rígida**

Cápsula de gelatina vegetal (resistente a ácidos) por 1 cápsula:

Composición (Complejo) de acietanolamida/sílice amorfa porosa 360 mg

Dibehenato de glicerilo 40 mg

Ejemplo 5. Comprimido efervescente

por 1 comprimido:

Composición (Complejo) de acietanolamida/sílice amorfa porosa 400 mg

Bicarbonato de potasio 343 mg

Carbonato de potasio 108 mg

Ácido cítrico anhidro 384 mg

Fructosa 130 mg

Polisorbato 80 15 mg

Saborizante de limón 10 mg

10

Ejemplo 6. Gránulos bucosolubles

1 g de gránulos:

Composición (Complejo) de acietanolamida 600 mg

Fructosa 230 mg

Sorbitol 90 mg

Ácido cítrico anhidro 20 mg

Éster palmítico de sacarosa 18 mg

Polisorbato 80 5 mg

Polivinilpirrolidona 30 15 mg

Carboximetilcelulosa de sodio reticulada 12 mg

Saborizante 10 mg.

REIVINDICACIONES

1. Una composición de aciletanolamida que comprende (porcentajes en peso):

- oleoiletanolamida (OEA) C18:1	60-65 %
- palmitoiletanolamida (PEA) C16:0	5-20 %
- linoleiletanolamida (LEA) C18:2	5-20 %
- estearoiletanolamida (SEA) C18:0	1-2 %
- palmitoleoiletanolamida (POEA) C16:1	0,1-0,8 %
- miristoiletanolamida (MEA) C14:0	0,02-0,15 %
- mezcla de glicéridos	4-6 %
- glicerol	6-8 %.

5

2. La composición de aciletanolamida de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende (porcentajes en peso):

- oleoiletanolamida (OEA) C18:1	61-63 %
- palmitoiletanolamida (PEA) C16:0	17-19 %
- linoleiletanolamida (LEA) C18:2	5-5,7 %
- estearoiletanolamida (SEA) C18:0	1,2-1,70
- palmitoleoiletanolamida (POEA) C16:1	0,3-0,5 %
- miristoiletanolamida (MEA) C14:0	0,03-0,11 %
- mezcla de glicéridos	5-5,5 %
- glicerol	7-7,5 %.

10

3. La composición de aciletanolamida de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende (porcentajes en peso):

- oleoiletanolamida (OEA) C18:1	61-63 %
- palmitoiletanolamida (PEA) C16:0	7-12 %
- linoleiletanolamida (LEA) C18:2	8-15 %
- estearoiletanolamida (SEA) C18:0	1,2-1,70
- palmitoleoiletanolamida (POEA) C16:1	0,3-0,5 %
- miristoiletanolamida (MEA) C14:0	0,03-0,11 %
- mezcla de glicéridos	5-5,5 %
- glicerol	7-7,5 %.

15

4. Un procedimiento de aminólisis no catalizada directa en ausencia de disolvente a partir de aceite de oliva con 2-aminoetanol, que comprende las siguientes etapas:

a) mezclar aceite de oliva con 2-aminoetanol;

20

b) calentar la mezcla de la etapa a) hasta una temperatura de entre 120 °C y 160 °C;

c) separar una composición de aciletanolamida obtenida por tanto en forma de un sólido ceroso;

25

d) opcionalmente, absorber la composición de aciletanolamida de la etapa c) sobre sílice amorfa porosa, obteniendo por tanto un compuesto de adsorción de composición de aciletanolamida/sílice amorfa porosa.

ES 2 974 247 T3

5. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 4, en el que en la etapa a) la proporción en peso de aceite de oliva/2-etanolamina está entre 100:13 y 100:22, o entre 100:15 y 100:20, o entre 100:16 y 100:18.
- 5 6. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 4 o 5, en el que la etapa b) se lleva a cabo a una temperatura de entre 130 °C y 150 °C, o entre 135 °C y 145 °C, y preferentemente durante un tiempo de más de 2 horas, o más de 3 horas y menos de 5 horas.
- 10 7. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 4 a 6, en el que la etapa d) se lleva a cabo fundiendo la composición de aciletanolamida de la etapa c) a una temperatura de entre 70 °C y 90 °C y a continuación añadiendo sílice amorfa porosa, y en el que preferentemente la proporción en peso de la composición de aciletanolamida con respecto a sílice amorfa porosa está entre 0,9:1 y 1,1:1, o es aproximadamente 1:1.
- 15 8. Una composición de aciletanolamida obtenible por el procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 4 a 7.
9. Un compuesto de adsorción de composición de aciletanolamida/sílice amorfa porosa, en el que la composición de aciletanolamida es como se define en la reivindicación 1, 2, 3 u 8.
- 20 10. Una formulación farmacéutica humana o veterinaria que comprende la composición de aciletanolamida de acuerdo con la reivindicación 1, 2, 3 u 8 o el compuesto de adsorción de composición de aciletanolamida/sílice amorfa porosa de acuerdo con la reivindicación 9, en la que la formulación está en formas farmacéuticas para administración oral, bucal, parenteral, rectal o transdérmica.
- 25 11. La formulación farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 10, en la que la composición de aciletanolamida se contiene en una forma farmacéutica líquida.
- 30 12. La formulación farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 10, en la que el compuesto de adsorción de composición de aciletanolamida/sílice amorfa porosa se contiene en una forma farmacéutica sólida.
- 35 13. Una formulación dietética, complemento alimenticio o alimento para propósitos médicos especiales (FSMP), que comprende la composición de aciletanolamida de acuerdo con la reivindicación 1, 2, 3 u 8 o el compuesto de adsorción de composición de aciletanolamida/sílice amorfa porosa de acuerdo con la reivindicación 9.
- 40 14. La composición de aciletanolamida de acuerdo con la reivindicación 1, 2 o 3 o el compuesto de adsorción de composición de aciletanolamida/sílice amorfa porosa de acuerdo con la reivindicación 9 o la formulación de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 13, para su uso en el tratamiento de neuroinflamación de bajo grado.
15. La composición de aciletanolamida de acuerdo con la reivindicación 1, 2 o 3 o el compuesto de adsorción de composición de aciletanolamida/sílice amorfa porosa de acuerdo con la reivindicación 9 o la formulación de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 13, para su uso de acuerdo con la reivindicación 14 en una población de pacientes que padecen obesidad.

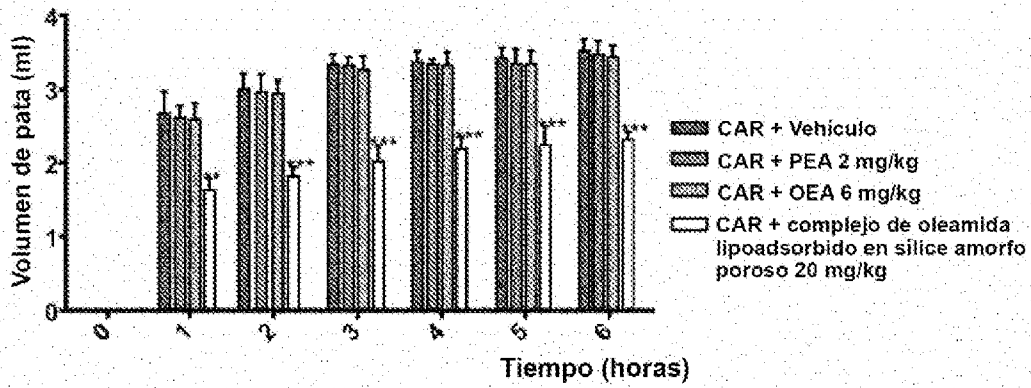


FIG. 1

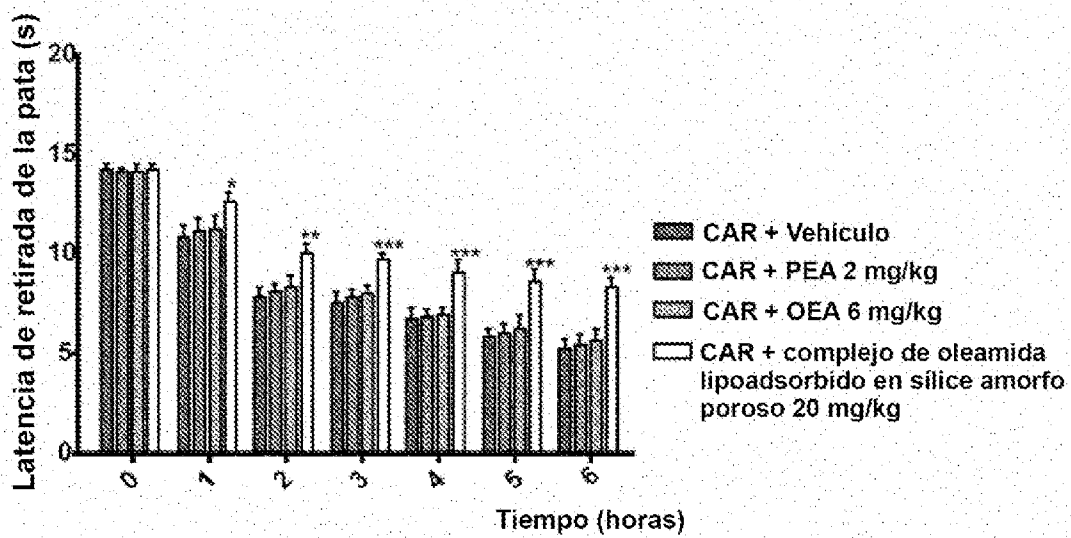


FIG. 2

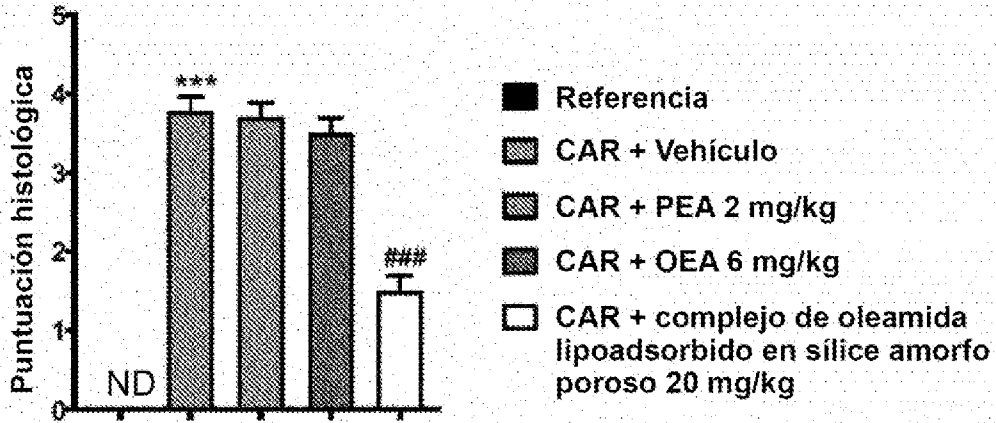


FIG. 3

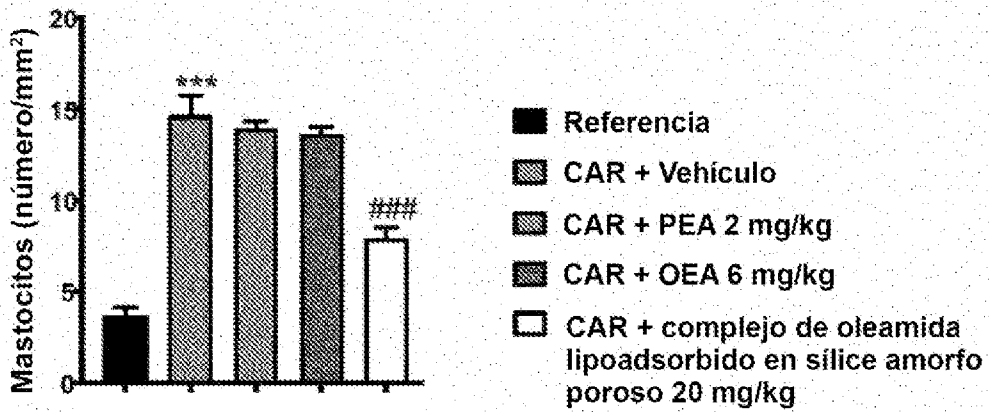


FIG. 4