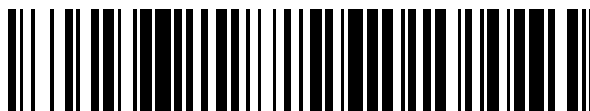


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 705 169**

51 Int. Cl.:

A61P 9/12 (2006.01)

A61K 36/889 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.07.2007 PCT/BR2007/000178**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **24.01.2008 WO08009084**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.07.2007 E 07763808 (8)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.10.2018 EP 2051721**

54 Título: **Preparación y uso farmacéutico de composiciones de extracto de euterpe oleracea (açai)**

30 Prioridad:

18.07.2006 BR PI0604281

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
22.03.2019

73 Titular/es:

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO (100.0%)
Rua São Francisco Xavier N°524 -Bld-Sala 6002 - Maracanã
CEP-20550-013 Rio de Janeiro RJ, BR**

72 Inventor/es:

SOARES DE MOURA, ROBERTO

74 Agente/Representante:

CURELL SUÑOL, S.L.P.

ES 2 705 169 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

Preparación y uso farmacéutico de composiciones de extracto de *Euterpe oleracea* (açai).

5 I) Ámbito de la Invención

La presente invención trabaja con compuestos que poseen propiedades antihipertensivas, procesos para la obtención de compuestos derivados de plantas pertenecientes a la familia *Palmae* y, más específicamente, a la especie *Euterpe oleracea*, las aplicaciones de estos productos, más específicamente un proceso para la obtención de una decocción de frutas de dicha planta, para obtener una decocción de las frutas y/o los huesos de la fruta, más precisamente un proceso para obtener extractos hidroalcohólicos de dichas decocciones, sobre todo, un proceso para obtener compuestos liofilizados de dichos extractos y, más específicamente, para la obtención de compuestos farmacéuticos e indicaciones terapéuticas para tratamientos contra vasoespasmos y enfermedades isquémicas, particularmente hipertensión arterial.

15 II) Antecedentes de la invención

Las enfermedades isquémicas son un gran problema en el ámbito de la medicina, especialmente en el área de cardiología, donde podemos encontrar vasoespasmos que causan diversos problemas circulatorios, como la cardiopatía isquémica y enfermedades vasculares periféricas. Así, la búsqueda de nuevos fármacos capaces de disminuir la contracción del músculo liso vascular es un objetivo permanente en farmacología.

La hipertensión arterial es una enfermedad con elevadas tasas de prevalencia entre la población adulta que puede provocar muchos síntomas nocivos en pacientes hipertensivos, incluyendo disfunción cardíaca, renal y cerebral. En la actualidad, la hipertensión arterial es una de las mayores causas de mortalidad. Por ello, tratamientos farmacológicos que disminuyan la presión arterial y las complicaciones cardiovasculares causadas por la hipertensión arterial son de gran ayuda para el paciente, y cuentan asimismo con el apoyo de la agencia de salud pública. Normalmente, los tratamientos farmacéuticos contra la hipertensión se obtienen con el uso de diuréticos, agentes beta bloqueadores, inhibidores del sistema renina-angiotensina, inhibidores del sistema simpático y componentes vasodilatadores.

30 III) Resumen de la invención

La presente invención queda definida en las reivindicaciones 1-18. Esta invención se refiere a un proceso de obtención de compuestos con propiedades vasodilatadoras y antihipertensivas. También hace referencia a aquellos compuestos obtenidos a partir de plantas pertenecientes a la familia *Palmae* y, más específicamente, a la especie *Euterpe oleracea*; particularmente, hablamos aquí de un proceso para la elaboración de productos obtenidos a partir de frutas y/o huesos de frutas. De forma específica, describimos un proceso para la obtención de los compuestos ya mencionados, es decir, para la obtención, a partir de las frutas o huesos de la *Euterpe oleracea*, de compuestos liofilizados y/o productos secados por pulverización.

Más específicamente, la presente invención trata un proceso de obtención de compuestos con propiedades vasodilatadoras y antihipertensivas, lo que incluye la utilización de la fruta entera o simplemente del hueso de la misma; proceso de obtención de una decocción a partir la fruta entera o del hueso; extracción de la decocción con solventes, en especial solventes aceptables fisiológicamente, como el etanol; y proceso para la obtención de productos farmacéuticos activos liofilizados y/o secados por pulverización.

Más precisamente, y refiriéndonos de nuevo a la presente invención, trata métodos de obtención de compuestos con propiedades vasodilatadoras y antihipertensivas, como liofilizados o secados por pulverización, lo que implica realizar un proceso de extracción de la fruta o el hueso con solvente fisiológico, como agua, con una decocción de 3 a 30 minutos. Esta invención también incluye un proceso de extracción de la decocción con etanol por un período de entre 5 y 15 días, así como la posterior filtración y evaporación del etanol, y la obtención de un compuesto liofilizado o secado por pulverización con actividades farmacológicas. Asimismo, y como ya hemos mencionado antes, la invención incluye los compuestos ya nombrados, además de la utilización de los mismos y los fármacos que contienen compuestos con propiedades vasodilatadoras y antihipertensivas.

55 IV) Breve descripción de la metodología utilizada

La presente invención se basa en datos científicos obtenidos en experimentos químicos y farmacológicos. A continuación, aportaremos un breve resumen del proceso de investigación en que se basa esta invención.

60 IV. A) Método de obtención de compuestos liofilizados y/o secados por pulverización del extracto hidroalcohólico de la fruta o el hueso de la *Euterpe oleracea*

Las frutas (o el hueso) de *Euterpe oleracea* fueron lavadas con agua del grifo y hervidas en agua destilada durante 5-10 minutos para, posteriormente, ser troceadas y/o machacadas y después hervidas, extraídas con etanol (v : v) y maceradas durante 7-10 días. Posteriormente, el extracto fue filtrado y la fase líquida se concentró en un evaporador

giratorio a aproximadamente 40 °C, lo que formó el compuesto liofilizado o secado por pulverización, que se mantuvo a baja temperatura hasta el día de uso.

IV. B) Métodos farmacodinámicos y farmacotécnicos

Las propiedades farmacológicas de los compuestos procedentes de la *Euterpe oleracea* fueron evaluadas mediante ensayos farmacológicos que medían su efecto vasodilatador en ratas. El método farmacotécnico hace referencia a la forma de obtener cápsulas o comprimidos que contengan compuestos liofilizados y/o secados por pulverización de los extractos obtenidos a partir de la fruta o el hueso de la *Euterpe oleracea*.

V) Descripción detallada de la invención

En el ámbito de la presente invención, antes de comenzar el proceso de extracción y, si las frutas de *Euterpe oleracea* no son utilizadas tras la cosecha, estas podrán ser almacenadas por largos períodos a una temperatura de entre +4°C y -20°C.

V. A) Método de obtención de residuos secos, compuestos liofilizados o secados por pulverización del extracto hidroalcohólico de la decocción de las frutas enteras o el hueso de la *Euterpe oleracea*

Los huesos de la fruta de *Euterpe oleracea* se obtienen pelando la fruta. Las frutas o los huesos se lavan y hierven en agua destilada durante 3-9 minutos, para así obtener su decocción. Tras hervir la decocción y trocearla y/o machacarla, se hierve durante otros 5 minutos y se extrae con etanol 95% en una proporción que varía entre 1:0,5 y 2:10 como, por ejemplo, 1:1. Esta mezcla se vuelve a trocear y/o machacar y, después, se macera por un determinado período (de 3 horas a 15 días) como, por ejemplo, durante 6 días a 4°C o a una temperatura ambiente de 25°C con agitación intermitente. Al final del período de maceración, se filtra el extracto con la ayuda de un colador con poros de entre 0,1 y 1,0 mm, como por ejemplo de 0,2 mm, filtrándose también mediante una gasa y, finalmente, con un papel de filtro, como Whatman n.1. La fase semisólida de la mezcla puede ser re-extraída en las mismas condiciones que acabamos de describir entre 1 y 3 veces, como 2 veces. La primera fase líquida se mantiene en un frigorífico a 4°C. Las fases líquidas posteriores se añaden a la primera. La fase líquida se concentra en un evaporador de baja presión a entre 35°C y 65°C como, por ejemplo, 50°C, y después se liofiliza o somete a secado por pulverización.

V.B) Métodos farmacológicos y farmacotécnicos

Las propiedades farmacológicas de los productos procedentes de la *Euterpe oleracea* fueron evaluadas mediante ensayos farmacológicos con ratas. Se calculó el efecto vasodilatador en el lecho mesentérico aislado de la rata. El efecto vasodilatador de los extractos fue examinado en el lecho mesentérico vascular de la rata. Brevemente, las ratas fueron sacrificadas y la arteria mesentérica fue canulada y perfundida con la solución Krebs mediante una bomba pulsátil de 4 mL por minuto. Se registró la presión de perfusión. El efecto vasodilatador del extracto, evaluado en la reducción de la presión de perfusión inducida por inyecciones intraarteriales del extracto durante la perfusión de noradrenalina. El método farmacotécnico hace referencia a la forma de obtención de cápsulas o comprimidos que contengan compuestos liofilizados y/o secados por pulverización obtenidos de la *Euterpe oleracea*.

VI.) Observación general

El proceso descrito en los apartados V.A y V.B se desarrolló no con el objetivo de limitar, sino de ilustrar las posibilidades de elaboración de la presente invención, ámbito limitado únicamente por el anexo de reivindicaciones.

VII) Ejemplos ilustrativos de la invención

A continuación, veremos algunos ejemplos con el fin de ilustrar, y de no limitar, esta invención, cuyo objetivo, como ya mencionamos, queda delimitado por el anexo de reivindicaciones.

VII. 1) Método de obtención de los residuos secos liofilizados o secados por pulverización de la decocción de las frutas de *Euterpe oleracea*

Aproximadamente 200 g de fruta de *Euterpe oleracea* fueron lavados con agua del grifo y hervidos en 400 mL de agua destilada durante 5 minutos. Después de hervir las frutas, estas fueron troceadas y/o machacadas y, entonces, se añadieron 400 mL de etanol a la decocción, que volvió a ser troceada. Dicho extracto fue macerado durante 6 días, así como batido al menos 1 vez por día. Tras la maceración, se filtró la decocción mediante un colador con poros de 0,2 mm y, posteriormente, con una gasa y un papel de filtro Whatman n.1. La fase líquida obtenida tras la filtración fue concentrada en un evaporador de baja presión a 45°C, liofilizada y/o secada por pulverización, y mantenida a -20°C hasta el día de uso.

VII. 2) Método de obtención de los residuos secos liofilizados y/o secados por pulverización de la decocción del hueso de la *Euterpe oleracea*

5 Aproximadamente 200 g de fruta de *Euterpe oleracea* fueron lavados con agua del grifo, y se separó al hueso de la piel de las frutas. El hueso fue hervido en 400 mL de agua destilada durante 5 minutos. Tras hervir los huesos, estos fueron troceados y/o machacados y, entonces, se añadieron 400 mL de etanol a la decocción, que volvió a ser troceada. Dicho extracto fue macerado durante 6 días, así como batido al menos 1 vez por día. Tras la maceración, se filtró la decocción mediante un colador con poros de 0,2 mm y, posteriormente, con una gasa y un papel de filtro Whatman n.1. La fase líquida obtenida tras la filtración fue concentrada en un evaporador de baja presión a 45°C, liofilizada y/o secada por pulverización, así como mantenida a -20°C hasta el día de uso.

VII.3) Ejemplo de ensayos biológicos realizados con los productos de la invención

15 El efecto vasodilatador de los productos fue examinado en el lecho mesentérico vascular de la rata, precontraído con norepinefrina.

VII.3.1) Lecho vascular mesentérico aislado

20 El lecho vascular mesentérico superior de la rata (MVB) fue aislado según el modelo de McGregor (1965). Brevemente, las ratas macho Wistar fueron sacrificadas inhalación de CO₂, y el MVB superior fue canulado y perfundido con un caudal de 4 mL min⁻¹ con suero fisiológico (PSS) mediante una bomba pulsátil (Lifecare Model 4, Abbott' Shaw). El PSS tenía la siguiente composición (mM): NaCl 118, KCl 4.7, CaCl₂ 2.5, MgSO₄ 1.2, KH₂PO₄ 1.2, NaHCO₃ 25, EDTA 0.02, y glucosa 11. El PSS (37 °C) fue hervido con 95%O₂/5% CO₂. Se midió la presión de perfusión (PP) con un transductor conectado a un preamplificador y a un registrador gráfico. Los liofilizados se disolvieron en el PSS y fueron administrados en bolo endovenoso directamente al flujo de perfusión (volumen < 300 ul). Las mezclas reposaron durante 30 minutos para equilibrar y, posteriormente, se administraron inyecciones de 120 µmol de KCl cada 10 minutos hasta que se obtuvieron respuestas consistentes. El liofilizado del extracto hidroalcohólico (1-30 µg) fue inyectado en bolo endovenoso después del aumento de PP (80-110 mmHg), añadiendo noradrenalina (NE; 6-30 µM) al fluido de perfusión. Cuando el efecto vasopresor de la NE alcanzó un límite estable, se inyectó acetilcolina (ACh; 10 pmol) y nitroglicerina (NG; 1 nmol) para comprobar las respuestas de dependencia e independencia del endotelio antes de obtener las curvas dosis-respuesta del liofilizado. El efecto vasodilatador de los extractos mostró una reducción en el porcentaje en relación con el efecto vasopresor de la NE. El efecto vasodilatador del liofilizado obtenido de la fruta y el hueso aparece demostrado en las Figuras 1 y 2, donde la Figura 1 incluye un gráfico del efecto vasodilatador del extracto hidroalcohólico obtenido de las frutas de *Euterpe oleracea* en el lecho vascular mesentérico perfundido de la norepinefrina preconcentrada de la rata. Ordenada: vasodilatación (%), expresada como reducción en el porcentaje de la vasoconstricción causada por la norepinefrina. Abscisa: dosis del extracto de las frutas de *Euterpe oleracea*. Cada punto se presenta según ± SEM. n=6 ratas, y la Figura 2 incluye un gráfico del efecto vasodilatador de un extracto hidroalcohólico obtenido a partir de los huesos de la *Euterpe oleracea* en el lecho vascular mesentérico perfundido aislado de la rata, preconcentrado con norepinefrina. Ordenada: vasodilatación (%), expresada como reducción en el porcentaje de la vasoconstricción causada por la norepinefrina. Abscisa: dosis del extracto de los huesos de *Euterpe oleracea*. Cada punto se presenta según ± SEM. n=6 ratas.

VIII) Aspectos farmacológicos de la elaboración de cápsulas y comprimidos que contienen el liofilizado obtenido a partir del extracto del hidroalcohólico procedente de las decocciones de la fruta y el hueso de la *Euterpe oleracea*

45 Las cápsulas y/o comprimidos con entre 100 y 1000 mg de liofilizado del extracto hidroalcohólico obtenido a partir de las decocciones de la fruta y el hueso de la *Euterpe oleracea* se obtuvieron conforme procedimientos farmacotécnicos. Se prepararon las cápsulas para contener entre 10 y 1000 mg, como por ejemplo 500 mg, del liofilizado, con maicena y dióxido de silicio coloidal. Cada cápsula puede tener la siguiente composición:

50

Liofilizado	500 mg	49,9%
Maicena	250 mg	49,9%
Dióxido de silicio coloidal	0,5 mg	0,2%
Total	750,5 mg	100%

Se añadió maicena para completar la masa total de la cápsula hasta llegar a aproximadamente 750 mg. Se usó dióxido de silicio coloidal para adsorber y facilitar la preparación de las cápsulas.

55 IX) Discusión sobre la invención del último estado de los documentos divulgados

60 En MATHEUS M. et al.: "Inhibitory effects of *Euterpe oleracea* Mart. on nitric oxide production and iNOS expression". Journal of Pharmacology - Elsevier Scientific Publishers LTD, IE, vol. 107, no 2. 22/March/2006, el extracto obtenido mediante maceración de las frutas, flores y espigas de *E. oleracea* con etanol a temperatura ambiente. A continuación, se trocean y/o machacan las frutas o el hueso de *Euterpe oleracea*, hirviéndolas de nuevo durante 5 minutos, extrayéndolas con etanol y agua (v:v) y macerándolas entre 6 horas y 10 días.

En Matheus et al. quedó demostrado que un efecto inhibitor en la formación NO debido a la inhibición de la actividad sintasa de iNO.

5 WO2004/084833 - Murdock et al. - JUÇARA AND AÇAI BASED DIETARY SUPPLEMENTS. 07/10/2004 habla sobre compuestos de la fruta Açai y Juçara, con propiedades altamente antioxidantes y ciclooxigenasa- actividad inhibitora y sus usos. Además, establece métodos para la elaboración de suplementos dietéticos procedentes de Açai y Juçara liofilizadas, agradables y estables.

10 En Murdock et al., el método empleado es muy similar al utilizado en el Norte de Brasil (consultar la descripción WO2004084833, página 47, párrafo [0322]). En dicho documento, está registrado que el açai se pela para extraer toda la pulpa. Por ello, el método descrito en WO2004084833 es un simple procedimiento mecánico realizado a temperatura ambiente. La pulpa integral de açai obtenida mediante dicho proceso no se filtra, y contiene no solo los compuestos líquidos solubles en agua, sino también compuestos sólidos o semisólidos de la pulpa de açai, que se deterioran rápidamente en unas horas a menos que sean congelados o liofilizados, y no se realiza ningún tipo de extracción de agua y/o etanol.

15 Considerando que el zumo de açai terapéutico obtenido mediante las enseñanzas de la patente mencionada anteriormente, las actividades farmacéuticas descritas en WO2004084833 son de acción antioxidante e inhibitora en
20 COX-1 y COX-2.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Proceso de obtención del extracto hidroalcohólico de frutas de la especie *Euterpe oleracea*, caracterizado por las siguientes etapas:
- 10 a) lavar las frutas con agua del grifo;
- b) someter las frutas de la etapa (a) a un proceso de extracción al hervirlas en agua por un período de entre 3 y 10 minutos para obtener una decocción;
- 15 c) machacar la decocción de la etapa (b) entre 3 a 10 minutos;
- d) Hervir la decocción por un período de entre 3 y 10 minutos y
- e) extraer la decocción obtenida en la etapa (d) con el solvente etanol en la proporción 1:1, v:v y trocearla enérgicamente durante 5 minutos, a continuación macerarla durante un período de entre 6 horas y 10 días a temperatura ambiente o a 4 °C, con el fin de obtener un extracto hidroalcohólico a partir de la decocción.
- 20 2. Proceso según la reivindicación 1, caracterizado por que la extracción de la etapa (b) dura 5 minutos; trocear la decocción en la etapa (c) dura 5 minutos, y se hierve la decocción en la etapa (d) durante 5 minutos.
3. Proceso según la reivindicación 1, caracterizado por que el período de maceración es de 6 días.
- 25 4. Proceso según la reivindicación 3, caracterizado por que la decocción macerada se filtra a través de un colador con poros de 1,0 mm y, posteriormente, con papel de filtro.
5. Proceso según la reivindicación 4, caracterizado por que la fase líquida se concentra en un evaporador giratorio de baja presión y entre 40°C y 60°C.
- 30 6. Proceso según la reivindicación 5, caracterizado por que la fase líquida libre de alcohol tras la concentración de la fase líquida se somete a un proceso de obtención de un producto liofilizado y/o secado por pulverización, que conduce a la obtención de un producto liofilizado y/o secado por pulverización procedente del extracto hidroalcohólico con actividad farmacológica.
- 35 7. Compuestos farmacéuticos que consisten en 10 y 1000 mg de un producto liofilizado y/o secado por pulverización obtenido según la reivindicación 6, así como otros compuestos farmacológicos inactivos.
- 40 8. Compuestos farmacéuticos según la reivindicación 7, para su uso en un método de prevención y tratamiento de hipertensión arterial y enfermedades inducidas por hipertensión arterial.
9. Compuesto farmacéutico según la reivindicación 8 para su uso en un método correspondiente a la reivindicación 8, que se emplea en aplicaciones humanas y veterinarias.
- 45 10. Proceso de obtención de un extracto hidroalcohólico a partir de huesos de las frutas de la especie *Euterpe oleracea*, caracterizado por las siguientes etapas:
- 50 a) lavar las frutas con agua del grifo;
- b) eliminar la piel de las frutas de la etapa (a) para obtener los huesos;
- c) someter los huesos de la etapa (b) a un proceso de extracción al hervirlos en agua por un período de entre 3 y 10 minutos para obtener una decocción de los huesos;
- 55 d) machacar la decocción de la etapa (c) de 3 a 5 minutos;
- e) hervir la decocción por un período de entre 3 y 10 minutos y
- 60 f) extraer la decocción obtenida en la etapa (e) con el solvente etanol en la proporción 1:1, v:v y trocearla y machacarla enérgicamente durante 5 minutos, a continuación macerarla durante un período de entre 6 horas y 10 días a temperatura ambiente o a 4°C, con el fin de obtener un extracto hidroalcohólico a partir de la decocción.
- 65 11) Proceso según la reivindicación 10, caracterizado por que la extracción de la etapa (c) dura 5 minutos; trocear la decocción en la etapa (d) dura 5 minutos, y la decocción se hierve en la etapa (e) durante 5 minutos.

ES 2 705 169 T3

- 12) Proceso según la reivindicación 10, caracterizado por que el período de maceración es de 6 días.
- 5 13) Proceso según la reivindicación 12, caracterizado por que la decocción macerada se filtra a través de un colador con poros de 1,0 mm y, posteriormente, con papel de filtro.
- 14) Proceso según la reivindicación 13, caracterizado por que la fase líquida se concentra en un evaporador giratorio de baja presión y entre 40°C y 60°C.
- 10 15) Proceso según la reivindicación 14, caracterizado por que la fase líquida libre de etanol tras la concentración se somete a un proceso de obtención de un producto liofilizado y/o secado por pulverización, que conduce a la obtención de un producto liofilizado y/o secado por pulverización procedente del extracto hidroalcohólico con actividad farmacológica.
- 15 16) Compuestos farmacéuticos que consisten en 10 y 1000 mg de un producto liofilizado y/o secado por pulverización obtenido según la reivindicación 15, así como otros compuestos farmacológicos inactivos.
- 17) Compuestos farmacéuticos según la reivindicación 16 para su uso en métodos de prevención y tratamiento de hipertensión arterial y enfermedades provocadas por hipertensión arterial.
- 20 18) Compuesto farmacéutico según la reivindicación 17 para su uso en el método correspondiente a la reivindicación 17, que se emplea en aplicaciones humanas y veterinarias.

FIG. 1

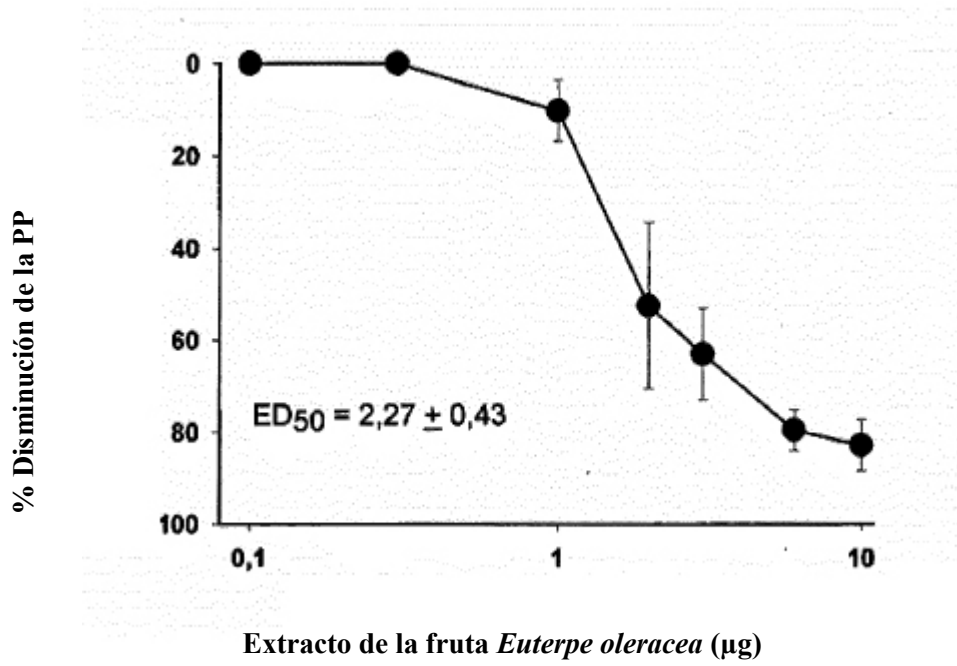


FIG. 2

