



MD/EP 3334705 T2 2022.01.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) MD/EP 3334705 (13) T2

(51) Int. Cl.: C07C 67/08 (2006.01.01)
C11C 3/08 (2006.01.01)
A61K 31/23 (2006.01.01)
C07C 69/533 (2006.01.01)
C07C 69/24 (2006.01.01)
C11C 3/00 (2006.01.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE EUROPEAN VALIDAT

<p>(21) Numărul de depozit: e 2018 0613</p> <p>(22) Data de depozit: 2016.08.09</p> <p>(96) Numărul cererii și data de depozit a cererii de brevet european: 16767360.7, 2016.08.09</p> <p>(97) Numărul de publicare și data publicării de către OEB a cererii de brevet european: 3334705, 2018.06.20</p> <p>(31) Numărul cererii prioritare: UB20153130</p> <p>(32) Data de depozit a cererii prioritare: 2015.08.14</p> <p>(33) Țara cererii prioritare: IT</p>	<p>(49) Data publicării traducerii fasciculului de brevet european validat: BOPI nr. 01/2022, 2022.01.31</p> <p>(80) Data publicării mențiunii acordării de către OEB: EPB nr. 37/2021, 2021.09.15</p> <p>(82) Data publicării solicitării de validare a brevetului european: BOPI nr. 08/2018, 2018.08.31</p>
<p>(71) Solicitant: PHARMANUTRA S.P.A., IT</p> <p>(72) Inventatori: LACORTE Andrea, IT; TARANTINO Germano, IT; BONDIOLI Paolo, IT</p> <p>(73) Titular: PHARMANUTRA S.P.A., IT</p> <p>(74) Mandatar autorizat: SOKOLOVA Sofia</p>	

(54) Acizi grași cetilați, sistem de preparare și utilizare a acestora

(57) Rezumat:

1

Prezenta invenție se referă la un procedeu de preparare a unui amestec de acizi grași cetilați și la un sistem pentru realizarea procesului menționat. În plus, prezenta invenție se referă la o compoziție cuprinzând, sau, alternativ, constând din, amestecul menționat de acizi grași cetilați. În sfârșit, prezenta invenție se referă la compoziția menționată pentru utilizare în tratamentul și/sau prevenția următoarelor: (i) artrita

2

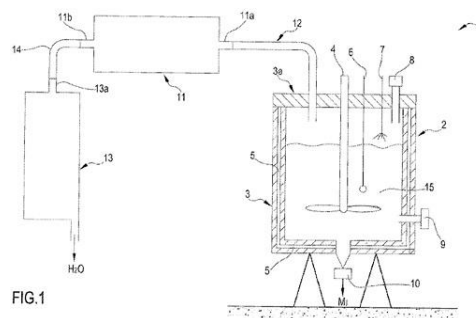
reumatoidă cu origine inflamatoare sau ne-inflamatoare, în particular osteoartrita; (ii) alte tulburări inflamatorii ale articulațiilor; (iii) psoriazis, lupus, boli periodontale sau boli cardiovasculare sau cardiace; (iv) toate patologiile osteoarticulare post-traumatice inclusiv traumele sportive; (v) toate patologiile degenerative ale articulațiilor (artroza, gonartroza, coxartroza, etc.), și (vi) tulburările inflamatoare-traumatice ale tendoanelor și

MD/EP 3334705 T2 2022.01.31

mușchilor. Suplimentar, se prevede utilizarea compoziției prezentei invenții în tratamentul și/sau prevenția patologiilor și tulburărilor susmenționate (i)-(vi) în asociere cu o terapie de reabilitare. Compoziția cuprinzând amestecul menționat este formulată într-o formă farmaceutică pentru uz oral (novel food, supliment sau dispozitiv medical), sub formă de pilulă, pastilă, capsulă, comprimat, granule, pulbere dispersabilă, sirop, soluție sau soluție pulverizabilă; pentru utilizare topică sub formă de cremă, unguent, pomadă, gel sau spray pentru utilizare cum ar fi aplicarea pe piele, sau pentru utilizare transdermică sub forma unui plastru.

Revendicări: 10

Figuri: 5



(54) Cetylated fatty acids, system for the preparation thereof and use thereof

(57) Abstract:

1

The present invention relates to a process for preparing a mixture of cetylated fatty acids and a system for carrying out said process. Furthermore, the present invention relates to a composition comprising, or alternatively, consisting of said mixture of cetylated fatty acids. Finally, the present invention relates to said composition for use in the treatment and/or prevention of: (i) rheumatoid arthritis of inflammatory and non-inflammatory origin, in particular osteoarthritis; (ii) other inflammatory joint conditions; (iii) psoriasis, lupus, periodontal diseases or cardiovascular or heart diseases; (iv) all post-traumatic osteoarticular pathologies including sports injuries; (v) all degenerative joint pathologies (arthrosis, gonarthrosis, coxarthrosis, etc.), and (vi) inflammatory-traumatic tendon and muscular

2

conditions. Furthermore, it is envisaged that the composition of the present invention be used in the treatment and/or prevention of the above-mentioned pathologies and disorders (i)-(vi) in association with a rehabilitative therapy. The composition comprising said mixture is formulated in a pharmaceutical form for oral use (novel food, supplement or medical device), i.e. in the form of a pill, pastille, capsule, tablet, granules, dispersible powder, syrup, solution or sprayable solution; for topical use, i.e. in the form of a cream, unguent, ointment, gel or spray to be used as such for application on the skin, or else for transdermal use in the form of a patch.

Claims: 10

Fig.: 5

Descriere:**(Descrierea se publică în varianta redactată de solicitant)**

Prezenta invenție se referă la un procedeu de preparare a unui amestec de acizi grași cetilați și la un sistem de realizare a procedurii menționat. Mai mult, prezenta invenție se referă la o compoziție care cuprinde sau, în mod alternativ, constă din amestec de acizi grași cetilați menționat. În cele din urmă, prezenta invenție se referă la compoziția menționată pentru utilizare în tratamentul și/sau prevenirea: (i) artritei reumatoide de origine inflamatorie și neinflamatorie, în special, a osteoartritei; (ii) altor afecțiuni inflamatorii ale articulațiilor; (iii) psoriazisului, lupusului, bolilor parodontale sau a bolilor cardiovasculare sau cardiace; (iv) tuturor patologiilor osteoarticulare posttraumatice, incluzând leziuni provocate prin sport; (v) tuturor patologiilor articulare degenerative (artroză, gonartroză, coxartroză etc.) și (vi) afecțiunilor inflamatorii-traumatice ale tendonului și musculare. Mai mult, este avut în vedere ca compoziția din prezenta invenție să fie utilizată în tratamentul și/sau prevenirea patologiilor și tulburărilor menționate mai sus (i) - (vi) în asociere cu o terapie de reabilitare. Compoziția care cuprinde amestecul menționat este formulată într-o formă farmaceutică pentru utilizare pe cale orală (alimente noi, supliment sau dispozitiv medical), adică sub formă de pilule, pastile, capsule, tablete, granule, pulbere dispersabilă, sirop, soluție, soluție pulverizabilă; pentru utilizare topică (compoziție pentru un dispozitiv medical), adică sub formă de cremă, unguent, alifie, gel sau spray pentru a fi utilizate ca atare pentru aplicare pe piele, sau altfel pentru utilizare transdermică sub formă de platură.

Este bine cunoscut faptul că o reacție de esterificare între un acid gras și un alcool cu lanț lung (mai lung decât C12) sau alcool cu greutate moleculară mare (MW mai mare decât 200) poate fi desfășurată în prezența unui solvent chimic, cum ar fi toluen, care se comportă ca un solvent azeotrop pentru eliminarea apei de esterificare. Un catalizator acid, cum ar fi acid sulfuric, este utilizat, de asemenea, în reacție, și procesul este desfășurat într-un reactor echipat cu un aparat Marcusson. Atunci când este folosit un astfel de proces, produsul ester final, care are o consistență de ceară, apare de culoare neagră datorită prezenței acidului sulfuric, care provoacă o carbonizare parțială a produsului ester final. Culoarea neagră poate fi îndepărtată prin spălare cu alcali diluați, care neutralizează catalizatorul, și cu clorură de sodiu, care favorizează separarea fazelor. Folosind acest tip de proces, este necesar, în plus, ca solventul utilizat să fie eliminat complet din produsul ester final. Eliminarea completă a solventului nu este întotdeauna ușor de realizat și, în orice caz, reprezintă un cost și o complicație tehnologică majoră. Ca rezultat al etapelor obligatorii menționate la sfârșitul reacției de esterificare, acest proces cunoscut este costisitor și necesită tehnologii destul de complexe. În plus, utilizarea solvenților în timpul reacției de esterificare nu garantează întotdeauna eliminarea completă și totală a acestora din produsul final și există întotdeauna riscul de a avea un conținut rezidual de solvenți în produsul final, care poate depăși limitele impuse de către autoritățile de reglementare, pentru aplicații medicale sau cosmetice. Acesta este motivul pentru care utilizarea unui produs final obținut prin utilizarea solvenților, chiar dacă suferă o reducere mare a cantității acestora, poate întâmpina obstacole de reglementare dacă este utilizat pentru aplicare orală sau topică.

G. Bartoli și colab. (Adv. Synth. Catal. 2005, 1, 33-38) descriu o metodă de esterificare a acizilor carboxilici cu alcooli în prezența percloratului de zinc hexahidrat ca catalizator, și a sulfatului de magneziu ca agent de deshidratare.

Prezența unui agent solid de deshidratare implică etape suplimentare de filtrare și purificare, care sunt deosebit de nedorite pentru reacții la scară largă.

Mai mult decât atât, este important să subliniem că ionul perclorat este un agent oxidant puternic care, chiar și la temperaturi relativ scăzute, determină degradarea compușilor alchilici, cum ar fi reactivii și produsul de reacție la care se referă prezenta invenție. Acest lucru este adevărat în cazul specific al structurilor care conțin sisteme nesaturate. Mai mult, prezența percloraților poate reprezenta, de asemenea, un pericol, deoarece acidul percloric și sărurile acestuia pot provoca, de asemenea, explozii în mediul de reacție.

Un alt factor important este acela că acidul percloric, la fel ca acidul sulfuric și acidul p-toluenesulfonic, catalizează o reacție parazită care are ca rezultat formarea de estolide ale acizilor grași nesaturați, adică ale esterilor acizilor cu lanț lung formați din hidroxi acizi prin esterificarea a doi acizi care au aceeași structură sau formule diferite, care sunt produse secundare nedorite, de exemplu, prin formarea unui epoxid pe dubla legătură a unui acid gras nesaturat. Rămâne astfel necesitatea de a putea avea un procedeu (și un sistem asociat) ușor de realizat, economic și capabil să prepare, cu un randament crescut, un ester ca materie primă pentru a fi utilizat într-o compoziție de un produs finit pentru utilizare orală și topică. Este de dorit să putem avea un procedeu (și un sistem asociat) care nu necesită eliminarea unui solvent la sfârșitul reacției de esterificare, dar care să permită totuși eliminarea, atât a apei produse în timpul reacției de esterificare pentru a favoriza progresul reacției, cât și a compușilor în sine care nu au

reacționat la sfârșitul reacției. Mai mult, este de dorit să putem avea un procedeu (și un sistem asociat) care nu dă naștere la reacții secundare sau produse secundare de reacție, cum ar fi, de exemplu, estolide.

Cu toate acestea, simpla aplicare a unui vid în timpul unei reacții de esterificare are ca efect, nu numai eliminarea din vasul de reacție a apei produse, ci, de asemenea, eliminarea reactivilor inițiali (adică acidul gras și alcoolul cetilic) care nu au reacționat încă. Ca rezultat, nu numai că randamentul reacției este redus, dar poate apărea o ocluzie în condensatorul situat înainte de pompa de vid și după reactor sau vasul de reacție, chiar și în fazele inițiale ale reacției. Prin urmare, și din punct de vedere al construcției instalațiilor, se simte nevoia de a introduce modificări / îmbunătățiri la sistemele existente pentru a depăși limitele și dezavantajele prezente în acestea.

Documentul US 4,113,881 dezvăluie o metodă de producere a miristoleatului de cetil prin extracție din țesuturile șoarecilor sau în mod sintetic, și o utilizare a miristoleatului de cetil în tratamentul simptomelor artritei reumatoide inflamatorii. Sinteza miristoleatului de cetil este realizată prin reacția alcoolului cetilic și a acidului miristoleic în benzen în prezența acidului p-toluenesulfonic (Exemplul II). Reacția de esterificare descrisă în US 4,113,881 este catalizată cu acid și este desfășurată în prezența unui solvent.

Solicitantul, după o activitate de cercetare îndelungată și intensă, a constatat în mod surprinzător că dezavantajele menționate mai sus pot fi depășite datorită procedurii (și sistemului asociat), așa cum este descris mai jos. Datorită procedurii și sistemului asociat descris și revendicat aici, solicitantul este capabil să pregătească un amestec de acizi grași cetilați cu ușurință și rentabil, cu o viteză de reacție foarte mare și randamente foarte mari, fără solvent și într-un mod adecvat pentru prepararea unei compoziții farmaceutice sau a unei compoziții pentru un dispozitiv medical sau a unui supliment pentru utilizare pe cale orală sub formă de pilulă, pastilă, capsulă, tabletă, granule, pulbere dispersabilă, sirop, soluție, soluție pulverizabilă; sau pentru utilizare topică sub formă de cremă, unguent, alifie, gel sau spray pentru a fi utilizate ca atare pentru aplicare pe piele, sau altfel pentru utilizare transdermică sub formă de plasture.

Prezenta invenție se referă la un procedeu de preparare a unui amestec de acizi grași cetilați, așa cum este revendicat în revendicările anexate.

Prezenta invenție se referă la un sistem pentru prepararea amestecului menționat de acizi grași cetilați, în conformitate cu procedeu din prezenta invenție, așa cum este revendicat în revendicările anexate.

Prezenta invenție se referă la o compoziție care cuprinde amestecul menționat de acizi grași cetilați, așa cum este revendicat în revendicările anexate.

Prezenta invenție se referă la o compoziție, care cuprinde amestecul menționat de acizi grași cetilați, pentru utilizare în tratamentul și/sau prevenirea: (i) poliartritei reumatoide de origine inflamatorie și neinflamatorie, în special, a osteoartritei; (ii) altor afecțiuni inflamatorii ale articulațiilor; (iii) psoriazisului, lupusului, bolii parodontale sau bolii cardiovasculare sau cardiace; (iv) tuturor patologiilor osteoarticulare posttraumatice, incluzând leziuni provocate prin sport; (v) tuturor patologiilor degenerative ale articulațiilor (artroză, gonartroză, coxartroză etc.) și (vi) afecțiunilor inflamatorii-traumatice ale tendonului și musculare, așa cum este revendicat în revendicările anexate.

Prezenta invenție se referă la compoziția pentru utilizare în tratamentul și/sau prevenirea patologiilor și tulburărilor menționate mai sus (i) - (vi), în asociere cu o terapie de reabilitare.

Amestecul menționat de acizi grași cetilați și compoziția menționată care îi conține sunt capabile să moduleze și să reducă mecanismele inflamatorii în mod rapid și eficient, asigurând astfel o activitate antiinflamatorie foarte puternică.

Variante de realizare preferate ale prezentei invenții sunt descrise mai jos în detaliu fără intenția de a limita sfera de întinere a invenției în sine.

Procedeu din prezenta invenție cuprinde o etapă în care cel puțin un acid gras de origine vegetală sau animală (reactiv de reacție) este pus în contact cu un alcool cetilic (reactiv de reacție) [1-hexadecanol, CAS 36653-82-4, EINECS 253-149-0] și cu un catalizator, în absența unui solvent (cum ar fi, de exemplu, în absența apei sau în absența oricărui solvent organic sau solvent anorganic). Cei doi reactivi de reacție sunt plasați în contact la o presiune inițială de 1 atmosferă (1 atm = 1,01 bari). Pe parcursul întregului curs al reacției de esterificare, presiunea poate rămâne constantă la 1 atmosferă sau poate fi redusă, așa cum este descris mai bine mai jos, prin stabilirea unui program de vid pentru întregul curs al reacției. Acizii grași sunt de origine vegetală sau animală și sunt selectați din grupul care cuprinde sau, în mod alternativ, constau din acid miristic, de exemplu, acid miristic de tipul [acid tetradecanoic, CAS 544-63-8, EINECS 208-875-2], acid oleic, de exemplu, acid oleic de tipul [CAS 112-80-1, EINECS 204-007-1], și amestecuri ale acestora. Acidul miristic poate fi un acid miristic cu o puritate în intervalul de la 90% până la 99%, preferabil, de la 94% până la 98%. Acidul oleic poate fi un acid oleic cu o puritate în intervalul de la 70% până la 95%, preferabil, de la 75% până la 90%, chiar mai preferabil, de la 80% până la 85%.

Într-o variantă de realizare preferată, amestecul inițial de acizi grași poate cuprinde de la 50% până la 99% în greutate de acid miristic, de exemplu, acid miristic de tipul [acid tetradecanoic, CAS 544-

63-8, EINECS 208-875-2] și de la 1% până la 50% în greutate de acid oleic, de exemplu, acid oleic de tipul [CAS 112-80-1, EINECS 204-007-1].

Într-o altă variantă de realizare preferată, amestecul inițial de acizi grași poate cuprinde de la 60% până la 90% în greutate de acid miristic, de exemplu, acid miristic de tipul [acid tetradecanoic, CAS 544-63-8, EINECS 208-875-2] și de la 40% până la 10% în greutate de acid oleic, de exemplu, acid oleic de tipul [CAS 112-80-1, EINECS 204-007-1].

De exemplu, amestecul inițial de acizi grași cuprinde 65% în greutate de acid miristic, de exemplu, acid miristic de tipul [acid tetradecanoic, CAS 544-63-8, EINECS 208-875-2] și 35% în greutate de acid oleic, de exemplu, acid oleic de tipul [CAS 112-80-1, EINECS 204-007-1].

Catalizatorul este un catalizator metalic și poate fi, preferabil, pulbere de zinc. Într-o variantă de realizare, catalizatorul utilizat este pulbere metalică de zinc. Cantitatea de catalizator adăugată este în intervalul de la 0,05% până la 0,3% în greutate în raport cu greutatea totală a reactivilor de reacție (adică, acid gras sau amestec de acizi grași + alcool cetilic). Preferabil, cantitatea de catalizator adăugată este în intervalul de la 0,1% până la 0,25% în greutate; chiar mai preferabil, este în intervalul de la 0,15% până la 0,20% în greutate.

S-a constatat că utilizarea unui catalizator pulbere metalică, cum ar fi, de exemplu, pulbere metalică de zinc, este deosebit de avantajoasă deoarece, pe lângă asigurarea unor randamente excelente și a unei purități crescute a produsului de reacție, poate fi ușor îndepărtat din amestecul final prin filtrare. De exemplu, conținutul de zinc din produsul final obținut prin procedeul din invenție este egal sau mai mic decât 20 ppm. Acest conținut este perfect compatibil cu utilizarea produsului de reacție în scopuri farmaceutice sau cosmetice, având în vedere, de asemenea, faptul că zincul are o tolerabilitate considerabil mai mare decât cea a altor metale, cum ar fi, de exemplu, staniu și titan, care pot fi utilizate ca catalizatori în reacțiile de esterificare sub formă de săruri, de ex., cloruri sau oxizi.

Reacția este desfășurată la o temperatură din intervalul de la 150 °C până la 200 °C, preferabil, la o temperatură din intervalul de la 160 °C până la 190 °C, chiar mai preferabil, la 180 °C. Timpul de reacție este în intervalul de la 1 oră până la 10 ore, preferabil, de la 1 oră până la 8 ore, preferabil, de la 4 ore până la 7 ore. Persoana de specialitate în domeniu este conștientă de faptul că timpul de reacție depinde de condițiile de reacție utilizate (temperatură, presiune, tipul de catalizator și concentrațiile de reactivi).

Eliminarea apei de reacție care se formează în timpul reacției de esterificare este o etapă necesară pentru a atinge un randament optim de transformare / reacție. Eliminarea apei din mediul de reacție poate fi realizată prin distilare în vid efectuată pe întreaga reacție de esterificare în reactor, utilizând un program de vid care aplică o reducere a presiunii de reacție într-un mod neliniar (vezi metoda II și aparatul II descrise de mai jos). În acest caz, programul de vid este aplicat întregului sistem și întregului proces. În mod alternativ, eliminarea apei din mediul de reacție poate fi realizată la o presiune constantă de 1 atm prin utilizarea unui flux de gaz inert introdus în mediul de reacție în timpul reacției de esterificare. Fluxul de gaz inert servește pentru a transporta / a extrage apa de reacție formată din mediul de reacție (vezi metoda I și aparatul I descrise mai jos).

S-a constatat că utilizarea unui gaz inert, cum ar fi, de exemplu azot, argon sau amestecuri ale acestora, are, de asemenea, un efect protector împotriva oxidării materialului, în special, în ceea ce privește sistemele nesaturate, cum ar fi cele ale acidului miristoleic sau ale altor acizi grași nesaturați care pot fi prezenți (de ex., acid palmitoleic, oleic, linoleic și linolenic).

În mod avantajos, s-a constatat că produsul final al procedurii conform prezentei invenții (îndicat ca MI în Figurile 1-4) are o puritate crescută, de exemplu, mai mare decât 95%. De fapt, folosind metode analitice adecvate, cum ar fi cromatografie de gaze cu un detector cu ionizare în flacără (GC-FID), nu au fost impurități, cum ar fi produse secundare de oxidare sau estolide, care sunt obținute în general, în cazul în care sunt detectate, în cantități substanțiale în condiții de esterificare în conformitate cu stadiul tehnicii.

De obicei, randamentul reacției este mai mare decât 95%, și amestecul de la sfârșitul reacției conține cel mult 3% alcool cetilic și cel mult 1,4% din amestecul inițial de acizi grași (greutate / greutate totală a amestecului MI). După filtrarea catalizatorului și, opțional, un tratament deodorant pentru a produce MF (Figurile 1-4), de exemplu, la 180 °C și la o presiune reziduală de 10 mbar, conținutul de alcool cetilic este mai mic decât 1,5%, și conținutul de amestec de acizi grași este mai mic decât 0,9%. Este obținută o puritate mai mare decât 97,5%. Solicitantul a descoperit în mod surprinzător că prin aplicarea unui program de vid, selectat cu atenție în funcție de gradul de progres al reacției, este posibil să se favorizeze progresul reacției prin eliminarea numai a apei fără inducerea distilării reactivilor, mai ales în fazele timpurii ale reacției, de exemplu, în primele două / trei ore (vezi metoda II, aparatul II).

Într-o variantă de realizare, reacția este condusă prin aplicarea unui program de vid (reducerea presiunii în interiorul reactorului și a întregului sistem într-un mod neliniar - vezi metoda II, aparatul II), în care presiunea aplicată este, de exemplu, egală cu 60.000 Pa (600 mbar) și se reduce, într-un mod neliniar, la 500 Pa (5 mbar), de exemplu, după 7 ore. Preferabil, presiunea inițială de reacție este de 1 atm

și apoi se aplică o reducere a presiunii, care este, de exemplu, egală cu 600 mbar în prima oră și apoi scade, de exemplu, până la 500 mbar la 2 ore după începere, 300 mbar la 3 ore după începere, 200 mbar la 5 ore după începere și 5 mbar la 7 ore după începere (timpul total de reacție este de 7 ore). Pot fi utilizate și alte programe de vid.

5 Solicitantul a găsit util și avantajos să echipeze reactorul sistemului din prezenta invenție cu un condensator vertical și cu un condensator orizontal, dispuse în serie și cu temperatură controlată (vezi metoda II, aparatul II) sau, în mod alternativ, doar cu un condensator orizontal (vezi metoda I, aparatul I). Condensatorul vertical este menținut la o temperatură din intervalul de la 70 °C până la 90 °C, preferabil, la o temperatură de 80 °C, în timp ce condensatorul orizontal este, în ambele cazuri, menținut la o
10 temperatură din intervalul de la 10 °C până la 40 °C, preferabil, la o temperatură de 25 °C. Condensatorul vertical favorizează evaporarea apei și condensarea simultană a reactivilor, care sunt astfel reciclați în vasul de reacție. În plus, a fost dovedit a fi deosebit de avantajos, în ambele cazuri, să treacă un flux de gaz inert prin reactor în timpul reacției. Preferabil, gazul inert menționat este un azot gazos.

În prima variantă de realizare menționată (metoda I, aparatul I), gazul inert este introdus în
15 mediul de reacție, preferabil, ca un flux continuu, nu în masa de reacție, ci mai degrabă în volumul de mai sus (în capul reactorului), masa de reacție menționată conținută în reactor.

În a doua variantă de realizare (metoda II, aparatul II), gazul inert este introdus în mediul de reacție, preferabil, ca un flux continuu, în masa de reacție prezentă în reactor (adăugată în masă) prin intermediul unei conducte introduse în masa de reacție.

20 Prezenta invenție se referă la un sistem de realizare a procedurii de preparare a unui amestec de acizi grași cetilați care cuprind sau, în mod alternativ, care constau din miristat de cetil și/sau oleat de cetil.

Într-o primă variantă de realizare schematizată în Figura 1 (metoda I), sistemul 1 cuprinde un
25 reactor 2 reprezentat printr-un recipient 3 prevăzut cu un mijloc de amestecare 4, cum ar fi, de exemplu, un agitator mecanic, un mijloc de încălzire 5, cum ar fi, de exemplu, o manta modelată pe suprafața exterioară a recipientului 3, în interiorul căruia este determinat să treacă un fluid încălzit, un mijloc 6 pentru controlul temperaturii în interiorul recipientului, un mijloc 7 pentru suflarea unui gaz inert în interiorul recipientului, un orificiu de intrare 8 modelat în partea superioară a recipientului 3a astfel încât să permită introducerea solidelor sau reactivilor, un orificiu de ieșire 9 modelat în partea inferioară a recipientului 3 astfel încât să permită colectarea probelor de reacție, și o supapă 10 care permite descărcarea amestecului la sfârșitul procesului.

Reactorul 2, prin intermediul recipientului 3, este conectat la un condensator orizontal 11, care
35 are un prim capăt de intrare 11a și un al doilea capăt de ieșire 11b, prin intermediul unei conducte 12. Axa principală a condensatorului orizontal 11 este poziționată într-un mod în mod substanțial paralel cu suprafața de repaus a reactorului 2. Conducta 12 este poziționată între partea superioară a recipientului 3a și primul capăt de intrare menționat al condensatorului orizontal 11a. Condensatorul orizontal 11 este conectat, prin intermediul unei conducte 14, la un recipient 13 pentru colectarea apei de reacție. Conducta 14 este poziționată între al doilea capăt de ieșire 11b și partea superioară a recipientului 13a.

Într-o primă variantă de realizare, metoda (I), pentru prepararea unui amestec de acizi grași
40 cetilați care cuprind sau, în mod alternativ, care constau din miristat de cetil și/sau oleat de cetil, este realizat utilizând sistemul din Figura 1.

Procedeele cuprinde o etapă în care acidul oleic și/sau miristic sunt puse în contact pentru a
reacționa cu alcoolul cetilic, în prezența unui catalizator, cum ar fi metalul zinc, astfel încât să se obțină un amestec de reacție 15. În scopul realizării acestei etape, acizi grași menționați, alcoolul cetilic și, mai
45 târziu, când masa substanțelor reactive este în stare topită, catalizatorul (în absența solvenților) sunt încărcate în reactorul 2 prin introducerea lor prin orificiul 8.

Amestecul de reacție este adus la o temperatură de reacție egală sau mai mică decât 100 °C și la o presiune de 1 atm. În scopuri de încălzire, un fluid încălzit, cum ar fi, de exemplu, un ulei încălzit sau
50 vapori de apă, este introdus sub presiune, la o temperatură cum ar fi aceea pentru obținerea temperaturii de reacție dorite în mantaua 5 a recipientului 3. În timpul etapei de încălzire, sunt activate amestecul de reacție 15, care se află în interiorul reactorului 2, mijloacele de agitare 4 și mijloacele de control al temperaturii 6, și un gaz inert, de exemplu, azot, este suflat / introdus în recipientul 3 prin intermediul mijloacelor de suflare 7. Gazul inert, azot, nu este suflat / introdus în amestecul de reacție 15, ci este introdus mai degrabă în recipientul 3, în volumul prezent deasupra amestecului de reacție 15. Acizii grași,
55 alcoolul cetilic și catalizatorul menționate (în mod avantajos în absența solvenților, presiunea este egală cu 101.325 Pa (1 atm) și temperatura este în intervalul de la 150 °C până la 200 °C) dau naștere unei reacții de esterificare în amestecul de reacție 15, cu producerea de esteri cetilați și apă de esterificare. Reacția de esterificare este desfășurată fără utilizarea unui vid, ci mai degrabă la o presiune de 101.325 Pa (1 atm). Apa de esterificare prezentă în amestecul de reacție 15, în condițiile de temperatură și presiune de
60 reacție, este transformată în vapori de apă, care sunt eliminați din recipientul 3. Vaporii de apă sunt eliminați din recipientul 3 datorită fluxului de azot introdus / suflat în partea de volum de deasupra

amestecului de reacție 15 (volum de deasupra amestecului de reacție). Vaporii de apă și azotul ajung la condensatorul orizontal 11 prin intermediul conductei 12. Gazul inert ieșit din recipientul 3 trece prin conductele 12 și 14, este recuperat și reintrodus în recipientul 3 (prin intermediul unui sistem de conducte și supape care nu sunt arătate în Figura 1) cu ajutorul mijloacelor de suflare 7.

5 Condensatorul orizontal 11 are scopul de a condensa apa de esterificare, eliminând-o din amestecul de reacție 15, astfel încât să conducă reacția de esterificare către cel mai mare randament posibil. Apa de esterificare condensată în stare lichidă este colectată în recipientul 13 prin intermediul conductei 14. Pentru a realiza condensarea apei de esterificare, condensatorul 11 este menținut la o temperatură mai mică decât 100 °C, de exemplu, la o temperatura în intervalul de la 10 °C până la 40 °C, 10 preferabil, de la 20 °C până la 30 °C și la o presiune de 1 atm. La sfârșitul reacției de esterificare (efectuată fără utilizarea de solvenți, la o presiune de 1 atm și fără vid), amestecul de acizi grași cetilați este răcit și evacuat prin supapa 10.

Într-o a doua variantă de realizare schematizată în Figura 2 (metoda II), sistemul 1 cuprinde un reactor 2 reprezentat printr-un recipient 3 prevăzut cu un mijloc de amestecare 4, de exemplu, un agitator 15 mecanic, un mijloc de încălzire 5, de exemplu, o manta modelată pe suprafața exterioară a recipientului 3, în interiorul căreia este determinat să treacă un fluid încălzit, un mijloc de control al temperaturii 6 în interiorul recipientului, un mijloc 7 pentru suflarea unui gaz inert în amestecul de reacție 15 conținut în recipientul 3, un orificiu de intrare 8 în partea superioară a recipientului 3a pentru a permite introducerea solidelor sau reactivilor, un orificiu de ieșire 9 format în partea inferioară a recipientului 3 pentru a permite colectarea probelor de reacție, și o supapă 10 pentru a permite descărcarea amestecului la sfârșitul procesului.

Reactorul 2, prin intermediul recipientului 3, este conectat la un condensator vertical 16 care are un prim capăt de intrare 16a și un al doilea capăt de ieșire 16b, prin intermediul unei conducte 12. Axa principală a condensatorului vertical 16 este poziționată substanțial perpendicular pe suprafața de repaus a reactorului 2. Conducta 12 este poziționată între partea superioară a recipientului 3a și primul capăt de intrare al condensatorului vertical 16a. Condensatorul vertical 16 este conectat la un condensator orizontal 11, care are un prim capăt de intrare 11a și un al doilea capăt de ieșire 11b, prin intermediul unei conducte 17. Axa principală a condensatorului orizontal 11 este poziționată substanțial paralel cu suprafața de repaus a reactorului 2. Conducta 17 este poziționată între capătul condensatorului vertical 16b și primul capăt de intrare menționat al condensatorului orizontal 11a. Condensatorul orizontal 11 este conectat la un recipient 13 pentru colectarea apei de reacție prin intermediul unei conducte 14. Conducta 14 este poziționată între al doilea capăt de ieșire 11b și partea superioară a recipientului 13a. Conducta 14 cuprinde o ieșire 18 către o pompă sau un dispozitiv (care nu este arătat în Figura 2) capabil să creeze un vid (presiune mai mică decât 1 atm) sau, mai degrabă, un program de vid cu o reducere neliniară a presiunii. Într-o a doua variantă de realizare, procesul (II), pentru prepararea unui amestec de acizi grași cetilați care cuprind sau, în mod alternativ, care constau din miristat de cetil și/sau oleat de cetil, este realizat utilizând sistemul din Figura 2. Procesul cuprinde o etapă în care acidul oleic și/sau miristic sunt puse în contact pentru a reacționa cu alcoolul cetilic în prezența unui catalizator, cum ar fi metalul zinc, astfel încât să se obțină un amestec de reacție 15. Pentru a efectua această etapă, acizi grași menționați, alcoolul cetilic și catalizatorul (în absența solvenților) sunt încărcate în reactorul 2 prin introducerea lor prin orificiul 8.

Amestecul de reacție este adus la o temperatură de reacție egală sau mai mică decât 100 °C și o la presiune de 1 atm, sau altfel, la o temperatură de reacție mai mare decât 100 °C, de exemplu, o temperatură din intervalul de la 150 °C până la 200 °C. În scopuri de încălzire, un fluid încălzit, cum ar fi, 45 de exemplu, un ulei încălzit sau vaporii de apă, este introdus sub presiune, la o temperatură, cum ar fi aceea pentru obținerea temperaturii de reacție dorite în mantaua 5 a recipientului 3. În timpul etapei de încălzire sunt activate amestecul de reacție 15, care se află în interiorul reactorului 2, mijloacele de agitare 4 și mijloacele de control al temperaturii 6, și un gaz inert, de exemplu, azot, este suflat / introdus în recipientul 3 prin intermediul mijloacelor de suflare 7. Gazul inert, azot, este suflat / introdus în amestecul de reacție 15. Acizii grași menționați, alcoolul cetilic și catalizatorul (în mod avantajos în absența unui solvent și la o temperatură din intervalul de la 150 °C până la 200 °C) dau naștere unei reacții de esterificare în amestecul de reacție 15, cu producerea de esteri cetilați și apă de esterificare. Apa de esterificare prezentă în amestecul de reacție 15, în condițiile de temperatură și presiune de reacție, este transformată în vaporii de apă, care trebuie eliminați din recipientul 3 pentru a crește randamentul reacției. 55 Vaporii de apă sunt eliminați din recipientul 3 prin intermediul unui program de vid cu o reducere neliniară a presiunii, care intervine după condensator 11. Vaporii de apă și azotul ajung la condensatorul orizontal 11 prin intermediul conductei 12. Gazul inert iese din recipientul 3, trece prin conductele 12, 17 și 14, este recuperat și reintrodus în recipientul 3 (prin intermediul unui sistem de țevi și supape care nu sunt arătate în Figura 2) cu ajutorul mijloacelor de suflare 7. Condensatorul vertical 16 (fierbinte) are scopul de a favoriza evaporarea apei de reacție și condensarea simultană a reactivilor, care sunt, astfel, 60 reciclați în recipientul 3 prin intermediul conductei 12. Apa care se evaporă ajunge la condensatorul 11

prin intermediul conductei 17, în timp ce condensarea reactivilor și reintroducerea lor în recipientul 3 împiedică ocluzia conductelor și oprirea reactorului 2.

Condensatorul orizontal 11 (rece) are scopul condensării apei de esterificare, eliminând-o din amestecul de reacție 15, în așa fel încât să conducă reacția de esterificare către cel mai mare randament posibil. Apa de esterificare condensată în stare lichidă este colectată în recipientul 13 prin conducta 14, care cuprinde o conductă 18 care duce la o pompă sau dispozitiv (care nu este arătat în Figura 2) pentru a efectua un program de vid cu o reducere neliniară a presiunii pentru a facilita eliminarea apei de esterificare. Pentru a produce condensarea apei de esterificare, condensatorul 11 este menținut la o temperatură mai mică decât 100 °C, de exemplu, la o temperatură din intervalul de la 10 °C până la 40 °C, preferabil, de la 20 °C până la 25 °C și la o presiune de 1 atm.

La sfârșitul reacției de esterificare (efectuată fără utilizarea unui solvent), amestecul de acizi grași cetilați este răcit și evacuat din supapa 10.

Acidul miristic (acid tetradecanoic) utilizat poate fi selectat, de exemplu, dintre cei la o concentrație de 99% CAS 544-63-8 (EINECS 208-875-2) care au o compoziție procentuală (GLC): acid lauric C12:0 mai mic sau egal cu 1; acid miristic C14:0 mai mare sau egal cu 99%; acid palmitic C16:0 mai mic sau egal cu 1. Acidul oleic utilizat poate fi selectat, de exemplu, dintre cei care au cel puțin 78% acid oleic CAS 112-80-1 (EINECS 204-007-1) cu o compoziție procentuală (GLC), de exemplu: [acid lauric + acid miristic] C12:0 + C14:0 mai mic sau egal cu 0,5; acid oleic C18:1 mai mare sau egal cu 78%; acid linoleic C18: 2 mai mic sau egal cu 15 și alte C18:3 mai mici sau egale cu 1.

Alcoolul cetilic (1-hexadecanol) utilizat poate fi selectat, de exemplu, dintre cei identificați ca CAS 36653-82-4 (EINECS 253-149-0).

Amestecul MI (Figura 3) de acizi grași cetilați ieșiți din supapa 10 a reactorului 2 (Figura 1 și 2), obținut prin procedeul descris mai sus (metoda I, aparatul I, sau metoda II, aparatul II) cuprinde sau, în mod alternativ, constă din miristat de cetil și/sau oleat de cetil și un catalizator.

Acest amestec "inițial" MI poate fi supus unui tratament de rafinare ulterior pentru (i) a reduce cantitatea de catalizator conținută în acesta, (ii) a deodoriza amestecul și (iii) a elimina substanțele reactive prezente în acesta care nu au reacționat. În acest scop, amestecul MI suferă o filtrare a pământului de diatomee într-o presă de filtrare, astfel încât să se obțină un amestec filtrat Mf în care catalizatorul a fost îndepărtat sau a fost foarte mult redusă cantitatea. Amestecul filtrat Mf de ieșire este introdus într-un aparat de deodorizare pentru a fi tratat la o temperatură din intervalul de la 150 °C până la 200 °C, de exemplu, 180 °C, la o presiune reziduală în intervalul de la 500 Pa până la 1.500 Pa (de la 5 mbar până la 15 mbar), de exemplu, 10 mbar, în prezența vaporilor de apă direcți pentru o perioadă de timp din intervalul de la 1 oră până la 5 ore, preferabil, de la 2 ore până la 4 ore, de exemplu, 3 ore, astfel încât să se obțină un amestec MF "final". În ceea ce privește eliminarea catalizatorului, analiza ICP-IES efectuată pe amestecul MF "final" a relevat o concentrație reziduală de zinc de 19,6 mg/kg în amestecul de reacție, cu o reducere de 98% a conținutului inițial de pulbere metalică de zinc introdusă, care a fost egal cu 1000 mg/kg de amestec de reacție.

Figura 3 arată tratamentul de rafinare în care amestecul de ieșire MI de la supapa 10 a reactorului 2 este introdus, prin intermediul unei țevi 19, într-un amestecător 20 în care este adăugat pământ de diatomee. Prin conductele 21 și 21a, amestecul MI este introdus în recipientul 22 prin intermediul pompei 26 poziționată pe conducta 21, pentru a fi supus unei serii de etape în interiorul filtrului de presare 23 prin intermediul conductei 24 și pompei 25, pentru a se obține amestecul filtrat Mf, în care catalizatorul a fost îndepărtat sau a fost foarte mult redusă cantitatea. Amestecul filtrat Mf de ieșire din presa de filtrare 23 este introdus în recipientul 27 prin intermediul elementului de supapă 27a. Recipientul 27 este prevăzut cu un mijloc de încălzire 28, un mijloc de agitare 29 și un mijloc de suflare a vaporilor de apă 30. Deodorizarea și eliminarea reactivilor din amestecul Mf este desfășurată, de exemplu, la 180 °C și la o presiune de 10 mbar. Un condensator 32 este plasat pe partea de ieșire a recipientului 27; este conectat, prin conducta 31, la un dispozitiv pentru crearea unui vid (care nu este arătat în figură). La sfârșitul rafinării, se obține amestecul MF rafinat final care cuprinde sau, în mod alternativ, constă din miristat de cetil și/sau oleat de cetil și catalizator în cantități minime.

Amestecul MF final rafinat obținut așa cum este descris mai sus, are un ulei vegetal adăugat la el, cum ar fi un ulei de măsline rafinat, într-un raport în greutate 3:1, pentru a se obține compoziția din prezenta invenție; opțional, compoziția menționată poate cuprinde suplimentar aditivi și excipienți farmaceutici sau din clasa celor alimentari. Uleiul de măsline rafinat este adăugat la amestecul MF final rafinat, este răcit la 100 °C înainte ca acesta să se solidifice.

Într-o variantă de realizare preferată, compoziția menționată din prezenta invenție cuprinde amestecul de acizi grași cetilați și un amestec de acizi grași de origine vegetală cu un conținut crescut de acid oleic din ulei de măsline, ulei de palmier și ulei de floarea-soarelui (HOSO) etc.; amestecul de acizi grași cetilați menționat (obținut așa cum este descris mai sus) și amestecul de acizi grași de origine vegetală menționat fiind adăugate, preferabil, într-un raport în greutate de 5:1, 4:1, 3:1 sau 2:1, în mod avantajos, într-un raport în greutate de 3:1.

Compoziția din prezenta invenție poate cuprinde suplimentar un amestec de tocoferoli și lecitină. Amestecul de tocoferoli poate fi prezent într-o cantitate în greutate în intervalul de la 1% până la 5%, preferabil, de la 2% până la 3%, în raport cu greutatea totală a compoziției. Lecitina poate fi prezentă într-o cantitate în greutate în intervalul de la 1% până la 10%, preferabil, într-o cantitate de la 1% până la 5%, în raport cu greutatea totală a compoziției.

Într-o variantă de realizare preferată în mod deosebit, compoziția din prezenta invenție cuprinde 5% în greutate de lecitină, 20% în greutate de ulei de măsline rafinat, 74% în greutate de acizi grași cetilați și 1% în greutate de un amestec de tocofenoli, în raport cu greutatea totală a compoziției.

Solicitantul a descoperit în mod surprinzător că compoziția din prezenta invenție este deosebit de utilă în tratamentul și prevenirea (i) artritei reumatoide de origine inflamatorie și neinflamatorie, în special, a osteoartritei; (ii) altor afecțiuni inflamatorii ale articulațiilor; (iii) psoriazisului, lupusului, bolii parodontale sau bolii cardiovasculare sau cardiace; (iv) tuturor patologiilor osteoarticulare posttraumatice, incluzând leziuni provocate prin sport; (v) tuturor patologiilor articulare degenerative (artroză, gonartroză, coxartroză etc.) și (vi) afecțiunilor inflamatorii-traumatice ale tendonului și musculare. Mai mult, este avut în vedere ca compoziția din prezenta invenție să fie utilizată și pentru tratamentul și/sau prevenirea patologiilor și tulburărilor menționate mai sus (i) - (vi) în asociere cu o terapie de reabilitare.

Compoziția din prezenta invenție, spre deosebire de tratamentele cunoscute, nu are efecte secundare, cum ar fi disfuncții renale sau cardiace.

Artrita sau alte afecțiuni inflamatorii ale articulațiilor includ, dar nu sunt limitate la, osteoartrită, spondilită anchilozantă, artrită cervicală, fibromialgie, osteonecroză, boala Paget, bursită, psoriazis, gută, sindromul tunelului carpian, artrită reumatoidă juvenilă, artrită lombosacrală, artrită psoriatică și artrita reumatoidă.

Compoziția care cuprinde amestecul menționat este formulată într-o formă farmaceutică pentru utilizare pe cale orală (alimente noi, supliment sau dispozitiv medical), adică sub formă de pilule, pastile, capsule, tablete, granule, pulbere dispersabilă, sirop, soluție, soluție pulverizabilă; pentru utilizare topică (compoziție pentru un dispozitiv medical), adică sub formă de cremă, unguent, alifie, gel sau spray pentru a fi utilizate ca atare pentru aplicare pe piele, sau, altfel, pentru utilizare transdermică sub formă de plăsture.

Termenul "plăsture" indică un mediu textil sau sintetic care este capabil să elibereze cremă în zona pielii în care este aplicată. Atunci când se administrează local, cantitatea de compoziție administrată este în intervalul de la 1 până la 15 mg/kg de greutate corporală pe zi. Mai preferabil, cantitatea de compoziție administrată este în intervalul de la 3 până la 10 mg/kg de greutate corporală pe zi. Mai preferabil, cantitatea de compoziție administrată este în intervalul de la 5 până la 8 mg/kg de greutate corporală pe zi.

Compoziția din prezenta invenție poate conține în plus alte ingrediente active și/sau aditivi acceptabili farmaceutic, cum ar fi arome, stabilizatori și antioxidanți.

Metodă de analiză

Reacția pentru sintetizarea acizilor grași cetilați, efectuată cu metoda II, aparatul II (Figura 2), a fost desfășurată prin intermediul sistemului GC-FID (cromatografie de gaze cu detector cu ionizare în flacără) care constau din:

- Injector rece pe coloană;
- Coloană capilară de tip SE-54 (DB-5, HP-5 etc.), lungime 15 metri, diametru interior 0,32 mm, grosimea peliculei de 0,1 micrometri;
- Detector cu ionizare în flacără (FID), reglat la o temperatură de 370 °C;
- Gaz purtător: heliu 1 ml/min (modul de debit constant);
- Programul temperaturii cuptorului: pornire 50 °C (1 min) → - 180 °C (15 °C / min) → - 230 °C (7 °C / min) → 360 °C (10 °C / min) cu izotermie finală timp de 15 minute.

O probă reprezentativă luată într-o cantitate de 5 mg a fost tratată preliminar cu diazometan într-o soluție de eter pentru derivarea grupărilor libere -COOH, apoi a fost diluată cu heptan (8 ml) și a fost injectată.

Figura 4 (Exemplu de analiză GC-FID pentru sinteza miristatului de cetil) arată un grafic tipic de GC obținut în cazul sintezei miristatului de cetil ca în Exemplul 1. Atunci când acidul oleic este utilizat ca materie primă împreună cu acidul miristic (Exemplele 2 și 4), cromatograma obținută este cea din Figura 5 (Exemplu de analiză GC-FID pentru sinteza miristatului / oleatului de cetil).

Timpii de retenție (RT) în minute sunt:

- 8,025 pentru acid miristic;
- 9,044 pentru alcool cetilic;
- 10,550 pentru acid oleic + alți C18;
- 21,167 pentru miristat de cetil;
- 22,416 pentru palmitat de cetil;

- 23,608 pentru oleat de cetil + alți cetili de C18.

Prezența palmitatului de cetil este justificată de compoziția amestecului de acid oleic utilizat. Exemple de variante de realizate fără solvent într-un reactor echipat cu un condensator vertical încălzit la 80 °C și cu un condensator orizontal la 20 °C (metoda II și aparatul II):

5

Exemplul 1

Acid miristic (greutate moleculară 228), 50,0 g (0,219 moli). Alcool cetilic (greutate moleculară 242), 53,0 g (0,219 moli). Catalizator: pulbere metalică de zinc (Zn), 0,1% (0,1 g). Temperatura 180 °C. La sfârșitul reacției, proba a fost filtrată.

10

Tabelul 1.

Timp de reacție, ore	% de acid	% de alcool	% de ceară	Presiune reziduală, mbar
1	16,2	16,3	67,4	600
2	9,8	9,6	80,5	500
3	5,9	6,2	87,9	300
5	2,3	2,0	95,7	200
7	1,7	1,5	96,9	5

Exemplul 2

15

Acid miristic (greutate moleculară 228), 65,0 g (0,285 moli). Acid oleic 80% (greutate moleculară 274), 35,0 g (0,128 moli) [aciditate 204,7 NS 200,5 mg KOH/g]. Moli totali de acid: 0,413. Alcool cetilic (greutate moleculară 242), 100,0 g (0,413 moli). Catalizator: pulbere de Zn, 0,1% (0,2 g). Temperatura 180 °C. La sfârșitul reacției, proba a fost filtrată. Nu a apărut nicio ocluzie a condensatorului în fazele inițiale ale reacției.

Tabelul 2.

Timp de reacție, ore	% de acid	% de alcool	% de ceară	Presiune reziduală, mbar
1	17,9	18,3	67,9	600
2	10,4	10,8	78,7	500
3	6,6	7,2	86,2	300
5	4,2	4,9	90,9	200
7	2,4	2,5	95,1	5

20

Exemplul 3

Alcool cetilic (greutate moleculară 242), 100,0 g (0,413 moli). Acid oleic 80% (greutate moleculară 274), 112,0 g (0,409 moli). Catalizator: pulbere de Zn, 0,1% (0,2 g). Temperatura 180 °C. La sfârșitul reacției, proba a fost filtrată. Nu a apărut nicio ocluzie a condensatorului în fazele inițiale ale reacției.

25

Tabelul 3.

Timp de reacție, ore	% de acid	% de alcool	% de ceară	Presiune reziduală, mbar
1	19,1	19,3	61,6	600
2	10,6	12,0	77,4	500
3	6,7	8,2	85,1	300
5	3,5	5,3	91,2	200
7	1,4	3,1	95,5	5

Exemplul 4

30

Acid miristic (greutate moleculară 228), 160,0 g (0,701 moli). Acid oleic 80% (greutate moleculară 274), 88,0 g (0,321 moli) [aciditate 204,7 NS 200,5 mg KOH/g]. Moli totali de acid: 1,022. Alcool cetilic (greutate moleculară 242), 250,0 g (1,033 moli). Catalizator: pulbere de Zn, 0,1% (0,2 g). Temperatura 180 °C. Flux slab de azot în reactor. La sfârșitul reacției, proba a fost filtrată. Nu a apărut nicio ocluzie a condensatorului în fazele inițiale ale reacției.

Tabelul 4.

Timp de reacție, ore	% de acid	% de alcool	% de ceară	Presiune reziduală, mbar
1	15,6	12,6	71,8	600
2	10,0	6,7	83,3	500
3	6,8	3,7	89,5	300
5	4,7	1,6	93,6	200
7	3,5	0,8	95,7	5

Determinarea punctului de topire al compozițiilor obținute conform NGD C27-1976

Având în vedere caracteristicile substanțelor grase, punctul de topire este bine definit prin măsurarea punctelor de alunecare și de transparență. Aceste temperaturi corespund celor la care fracțiunea de o substanță în contact cu pereții tubului capilar începe să se topească (punctul de alunecare) și apoi să alunece și să curgă în sine în interiorul tubului capilar (punctul de transparență). Pentru a le măsura, substanța în cauză este plasată într-un tub special în formă de U de dimensiuni bine stabilite (pentru aspirația termică a probei topite la o temperatură de 10 °C peste punctul de topire) și este lăsată să se solidifice timp de cel puțin 16 ore, și apoi baia de apă în care este scufundată este încălzită foarte lent. Un amestec format din miristat de cetil (75% în greutate) din Exemplul 1 și ulei de măsline rafinat (25% în greutate) are: un punct de alunecare de 44,9 °C și un punct de transparență de 47,1 °C. Un amestec format din miristat de cetil și oleat de cetil (75% în greutate) din Exemplul 2 și ulei de măsline rafinat (25% în greutate) are un punct de alunecare de 44,4 °C și un punct de transparență de 45,1 °C. Un amestec format din miristat de cetil și oleat de cetil (75% în greutate) din Exemplul 4 și ulei de măsline rafinat (25% în greutate) are un punct de alunecare de 44,2 °C și un punct de transparență de 45,2 °C.

Proiectare experimentală

Studiu al eficacității *in vitro* - evaluarea *in vitro* a activității antiinflamatorii a unei probe de un amestec de acizi grași cetilați obținută cu metoda I din prezenta invenție pe o cultură celulară. Scopul prezentului studiu a fost de a evalua, într-un sistem *in vitro*, capacitatea probei menționate de a modula mecanismele inflamatorii induse în culturile de celule sinoviale umane (sinoviocite asemănătoare fibroblastelor) (ATCC-HTB-93). Studiul activității antiinflamatorii a fost realizat printr-un test, utilizând metoda ELISA, pentru mai mulți markeri de inflamație, mai precis, trei citokine pro-inflamatorii: TNFalfa, IL1alfa și IL6.

Prepararea probelor și metoda de expunere

Înainte de a fi testată pentru eficiență, proba a fost încălzită la 50 °C într-o baie cu temperatură controlată menținută sub agitare pentru a se obține o soluție omogenă. Apoi, proba a fost emulsionată cu ulei de porumb (37 °C) și a fost adăugat la aceasta un mediu de cultură după cum urmează: 0,1 g au fost emulsionate cu 100 μl de ulei de porumb, au fost aduse la un volum de 1 ml cu mediu de cultură (37 °C). Apoi au fost făcute diluții succesive în mediul de cultură. Proba a fost supusă unui test preliminar de citotoxicitate în scopul selectării concentrațiilor celor mai potrivite pentru testul final. În acest scop, au fost testate concentrații care variază de la 10,00% până la 0,08% (diluții în serie 1:2). Pe baza unei evaluări a rezultatelor testului, a fost selectat 1,00% de probă pentru efectuarea studiului activității antiinflamatorii. În scopul efectuării testului, culturile de celule sinoviale umane (sinoviocite asemănătoare fibroblastelor) (ATCC-HTB-93) au fost tratate timp de 24 de ore cu LPS (lipopolizaharidă din *Escherichia coli*, 1 μg/ml), un agent iritant cunoscut de natură bacteriană, pentru a induce stres inflamator acut, și au fost tratate simultan cu probele de testare la concentrația de 1% selectată pe baza testului preliminar de citotoxicitate. La sfârșitul perioadei experimentale monitorizate, nivelurile de citokine de interes au fost măsurate în mediul de cultură printr-un test ELISA. Rezultatele au fost comparate cu culturile de control negative (netratate, CTR-) și cu culturile de control pozitive (tratate numai cu LPS, CTR+). Rezumând, protocolul experimental a furnizat o testare a trei markeri proinflamatori (TNFalfa, IL1alfa și IL6) în:

- culturi celulare netratate (control negativ, CTR-);
- culturi celulare în care a fost indus experimental un eveniment de inflamație acută (control pozitiv, CTR+);
- culturi celulare în care a fost indus experimental un eveniment de inflamație acută și care au fost tratate simultan cu probele de testare la 1,00%.

Testarea markerilor de inflamație (TNFalfa, IL1alfa și IL6)

Mediile de cultură ale controalelor și ale celulelor tratate cu probele de testare au fost utilizate pentru a testa citokinele pro-inflamatorii TNFalfa, IL1alfa și IL6 utilizând metoda ELISA. În acest scop, au fost folosite kituri disponibile comercial care exploatează legarea competitivă a unui antigen (în acest caz citokina de interes) cu anticorpul său principal. Complexul imun (antigen-anticorp) este la rândul său recunoscut de către un anticorp secundar conjugat cu o peroxidază. Adăugarea substratului de peroxidază produce o reacție colorimetrică cu o intensitate proporțională cu cantitatea de complexe imune prezente și, astfel, cu cantitatea de citokine legate. Determinarea cantitativă se bazează pe o curbă de calibrare construită cu concentrații standard cunoscute de citokine pe o scară crescătoare.

Rezultate și grafice

Tabelele care urmează arată rezultatele obținute în prezentul studiu. Rezultatele sunt raportate ca cantitatea de citokine eliberate în mediul de cultură în timpul perioadei experimentale (valoare medie \pm SD) și ca o variație medie %, în comparație cu controalele.

Activitate antiinflamatorie - Testul TNFalfa

Tabelul 5: Testarea TNFalfa în culturile celulare CTR-, CTR+ și tratate cu o probă de un amestec de acizi grași cetilați obținută cu metoda I (proba R8P). Rezultatele sunt exprimate ca conținut mediu \pm SD (exprimat în ng/l) și ca variație medie %, în comparație cu controalele.

Tabelul 5.

	TNFalfa ng/l	% de variație față de CTR-	% de variație față de CTR+
CTR-	145,7 \pm 6,4	-	
CTR+	185,7 \pm 12,3	+27,5%	-
R8P 1,00%	156,7 \pm 6,4	+7,5%	-15,6%

Activitate antiinflamatorie - Testul IL1alfa

Tabelul 6: Testarea IL1alfa în culturile celulare CTR-, CTR+ și tratate cu proba R8P. Rezultatele sunt exprimate ca conținut mediu \pm SD (exprimat în ng/l) și ca variație medie %, în comparație cu controalele.

Tabelul 6.

	IL1alfa ng/l	% de variație față de CTR-	% de variație față de CTR+
CTR-	115,6 \pm 8,6	-	
CTR+	144,1 \pm 5,9	+24,7%	-
R8P 1,00%	110,1 \pm 8,3	-4,7%	-23,6%

Activitate antiinflamatorie - Testul IL6

Tabelul 7: Testarea IL6 în culturile celulare CTR-, CTR + și tratate cu proba R8P. Rezultatele sunt exprimate ca conținut mediu \pm SD (exprimat în ng/l) și ca variație medie %, în comparație cu controalele.

Tabelul 7.

	IL6 ng/l	% de variație față de CTR-	% de variație față de CTR+
CTR-	89,5 \pm 9,1	-	
CTR+	105,6 \pm 59	+18,1%	-
R8P 1,00%	73,7 \pm 4,5	-17,6%	-30,2%

(56) Referințe bibliografice citate în raportul de documentare:

- G. BARTOLI ET AL: "Highly Efficient Solvent-Free Condensation of Carboxylic Acids with Alcohols Catalysed by Zinc Perchlorate Hexahydrate, $Zn(ClO_4)_2 \cdot 6H_2O$ ", *ADVANCED SYNTHESIS & CATALYSIS*, vol. 347, no. 1, 1 January 2005 (2005-01-01), pages 33-38, XP055031893, ISSN: 1615-4150, DOI: 10.1002/adsc.200404171
- EP-A1- 2 283 836
- EP-A1- 2 441 444
- NZ-A- 522 434
- US-A- 4 113 881

(57) Revendicări:

1. Un procedeu de preparare a unui amestec de acizi grași cetilați (MI), care cuprinde etapele:
 - punerea în contact, într-un recipient (3) al unui reactor (2), a cel puțin unui acid gras selectat din grupul care cuprinde sau, în mod alternativ, constă din acid miristic, acid oleic sau amestecuri ale acestora, cu un alcool cetilic și un catalizator metalic, în absența unui solvent, astfel încât să se obțină un amestec de reacție (15);
 - încălzirea amestecului de reacție (15) menționat la o temperatură de reacție în intervalul de la 150 °C până la 200 °C și la o presiune de reacție de 101,325 Pa (1 atmosferă), astfel încât să dea naștere unei reacții de esterificare cu formarea inițială de esteri ai acizilor grași cetilați și apă de esterificare;
 - permiterea amestecului de reacție (15) menționat să reacționeze pentru un timp de reacție în intervalul de la 1 oră până la 8 ore, până la finalizarea reacției de esterificare menționate, astfel încât să se obțină formarea completă a unui amestec de acizi grași cetilați (MI) și eliminarea completă a apei de esterificare menționate, aceasta din urmă realizându-se prin introducerea unui flux de gaz inert în recipientul (3) reactorului (2) menționat pe tot parcursul timpului de reacție.
2. Procedeul conform revendicării 1, în care catalizatorul metalic menționat este un catalizator pulbere metalică, preferabil, catalizator pulbere metalică de zinc.
3. Procedeul conform revendicării 1 sau 2, în care eliminarea completă a apei de esterificare menționată este realizată prin menținerea constantă a presiunii de reacție la 101,325 Pa (1 atm) și introducerea fluxului de gaz inert menționat, prin intermediul unui mijloc de suflare (7), în porțiunea de volum de deasupra amestecului de reacție (15), permițând astfel extragerea apei de esterificare afară din recipient (3).
4. Procedeul conform revendicării 3, în care apa de esterificare extrasă din recipientul (3) în timpul reacției de esterificare la o presiune de reacție constantă este condensată într-un condensator orizontal (11) și este colectată într-un recipient (13); preferabil, condensatorul (11) menționat este menținut la o temperatură din intervalul cuprins între 10 °C până la 40°C și este conectat la recipientul (3) menționat, în porțiunea superioară (3a) a acestuia, prin intermediul conductei (12).
5. Procedeul conform revendicării 1 sau 2, în care eliminarea completă a apei de esterificare menționată este realizată prin utilizarea unui program de vid care aplică o reducere a presiunii de reacție într-un mod neliniar, și introducerea fluxului de gaz inert menționat, prin intermediul mijloacelor de suflare (7), în amestecul de reacție (15), permițând astfel extragerea apei de esterificare afară din recipient (3).
6. Procedeul conform revendicării 5, în care programul de vid aplică, preferabil, o reducere a presiunii de reacție la 60.000 Pa (600 mbar) după prima oră de reacție într-un mod neliniar, preferabil ajungând la 500 Pa (5 mbar) după un timp de reacție de șapte ore.
7. Procedeul conform revendicării 6, în care apa de esterificare extrasă din recipient (3) în timpul reacției de esterificare cu programul de vid este condensată într-un condensator orizontal (11) și este colectată într-un recipient (13) după ce a trecut prin un condensator vertical (16).

8. Procedeul conform revendicării 7, în care condensatorul (11) menționat este menținut la o temperatură, preferabil, din intervalul de la 10 °C până la 40 °C și este conectat la recipientul (3) menționat prin intermediul condensatorului vertical (16), care este menținut la o temperatură, preferabil, din intervalul de la 70 °C până la 90 °C.

9. Procedeul conform oricăreia dintre revendicările 1-8, în care amestecul de acizi grași cetilați (MI) menționat este supus unui tratament de rafinare ulterior, care cuprinde filtrarea pământului de diatomee într-o presă de filtrare (23), astfel încât să se obțină un amestec filtrat Mf în care catalizatorul metalic prezent în acesta a fost îndepărtat sau i-a fost foarte mult redusă cantitatea.

10. Procedeul conform revendicării 9, în care amestecul filtrat Mf este tratat într-un reactor (27), la o temperatură din intervalul de la 150 °C până la 200 °C și la o presiune din intervalul de la 500 Pa până la 1500 Pa (5 mbar până la 15 mbar), în prezența vaporilor de apă pentru o perioadă de timp din intervalul de la 1 oră până la 5 ore, astfel încât să se obțină un amestec final rafinat (MF) pe bază de acizi grași cetilați.

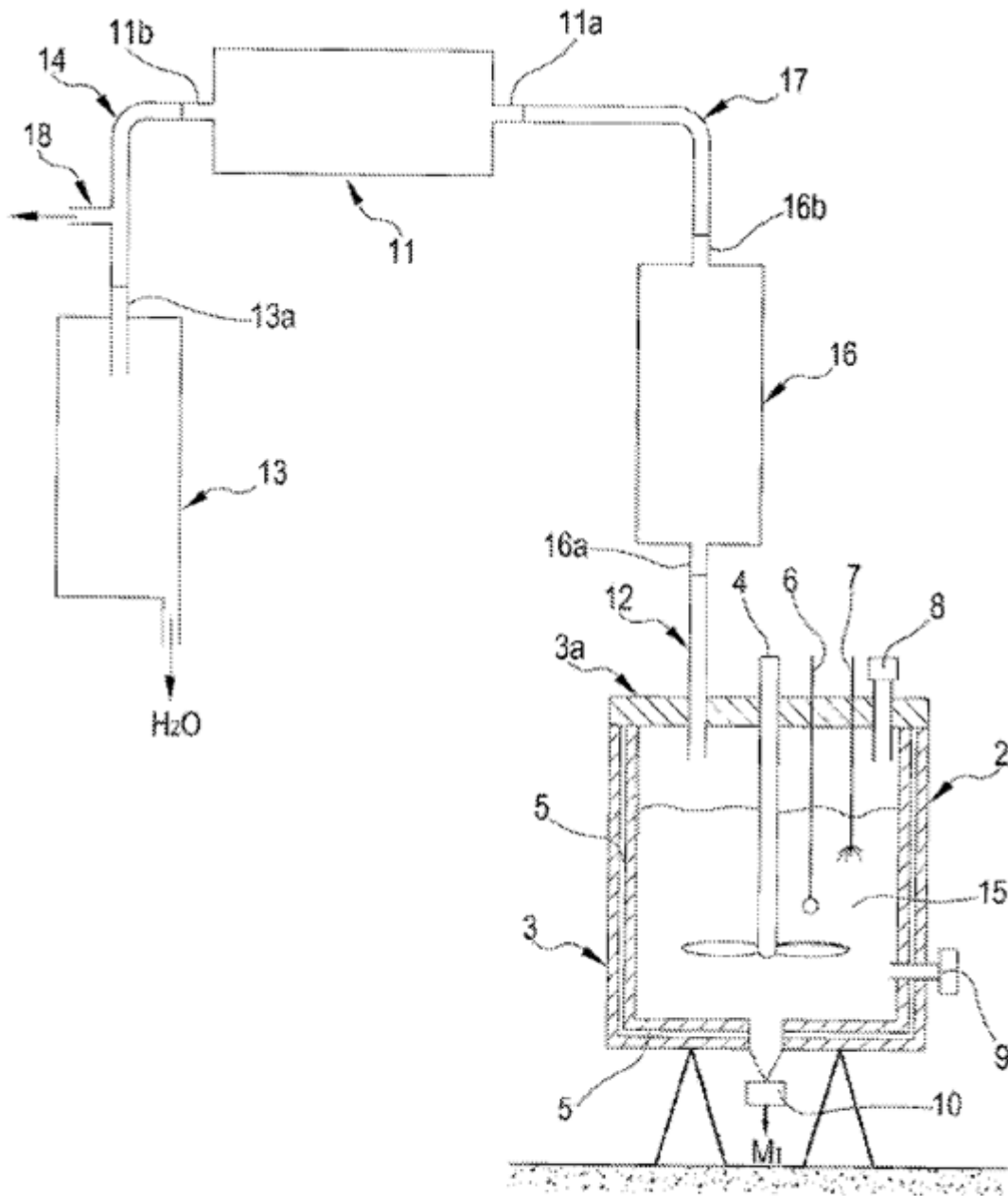


FIG.2

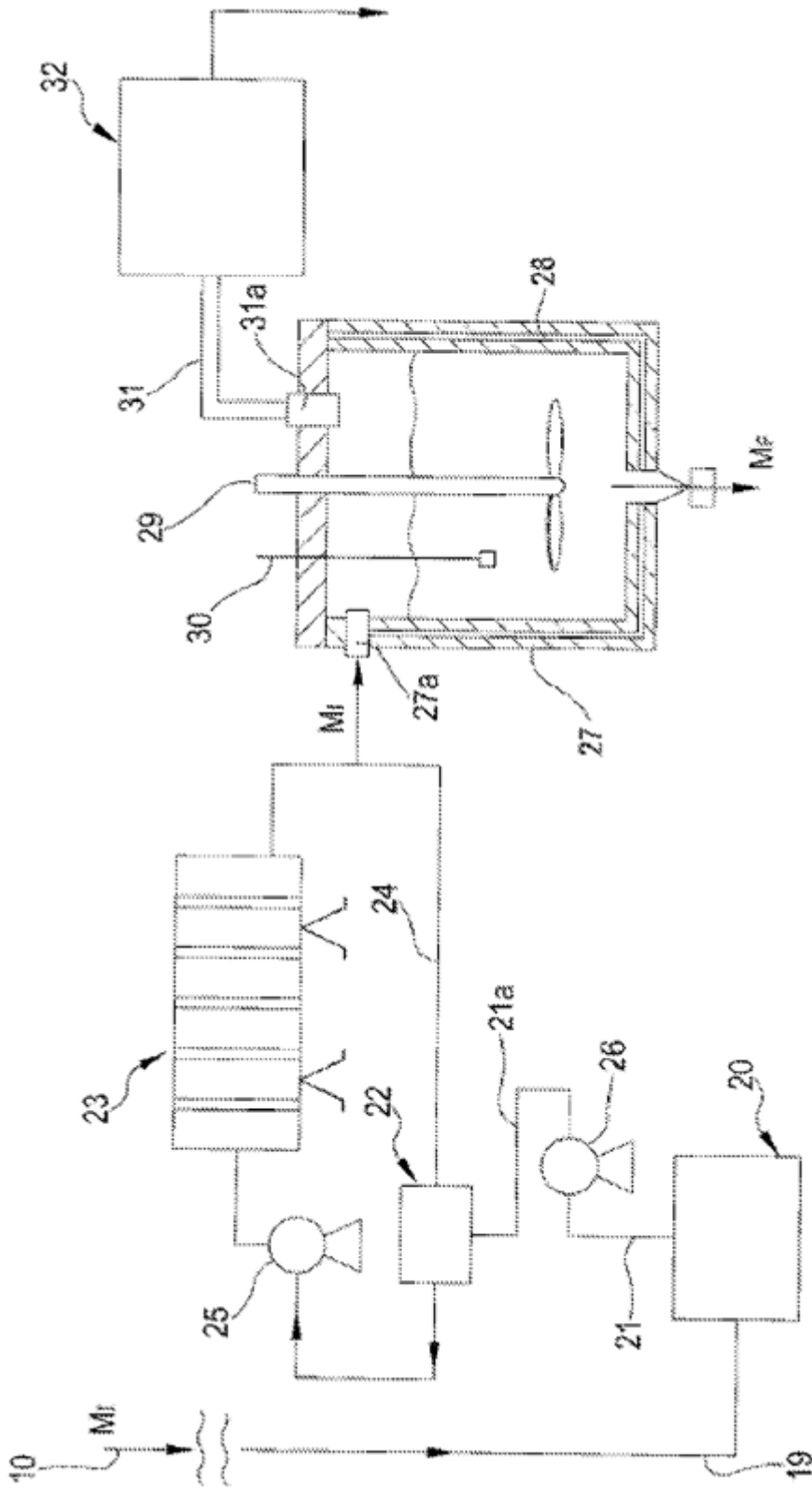


FIG.3

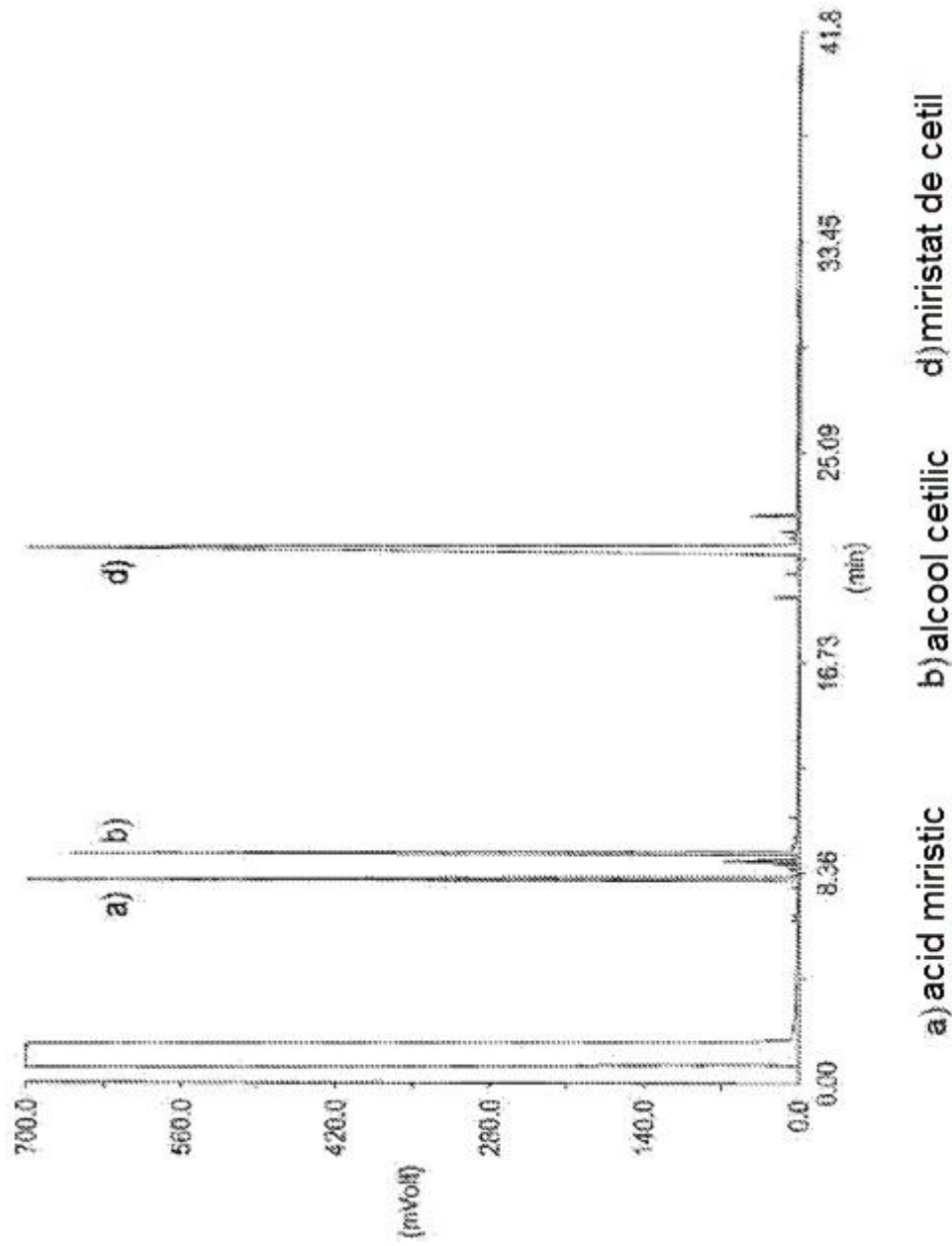


FIG.4

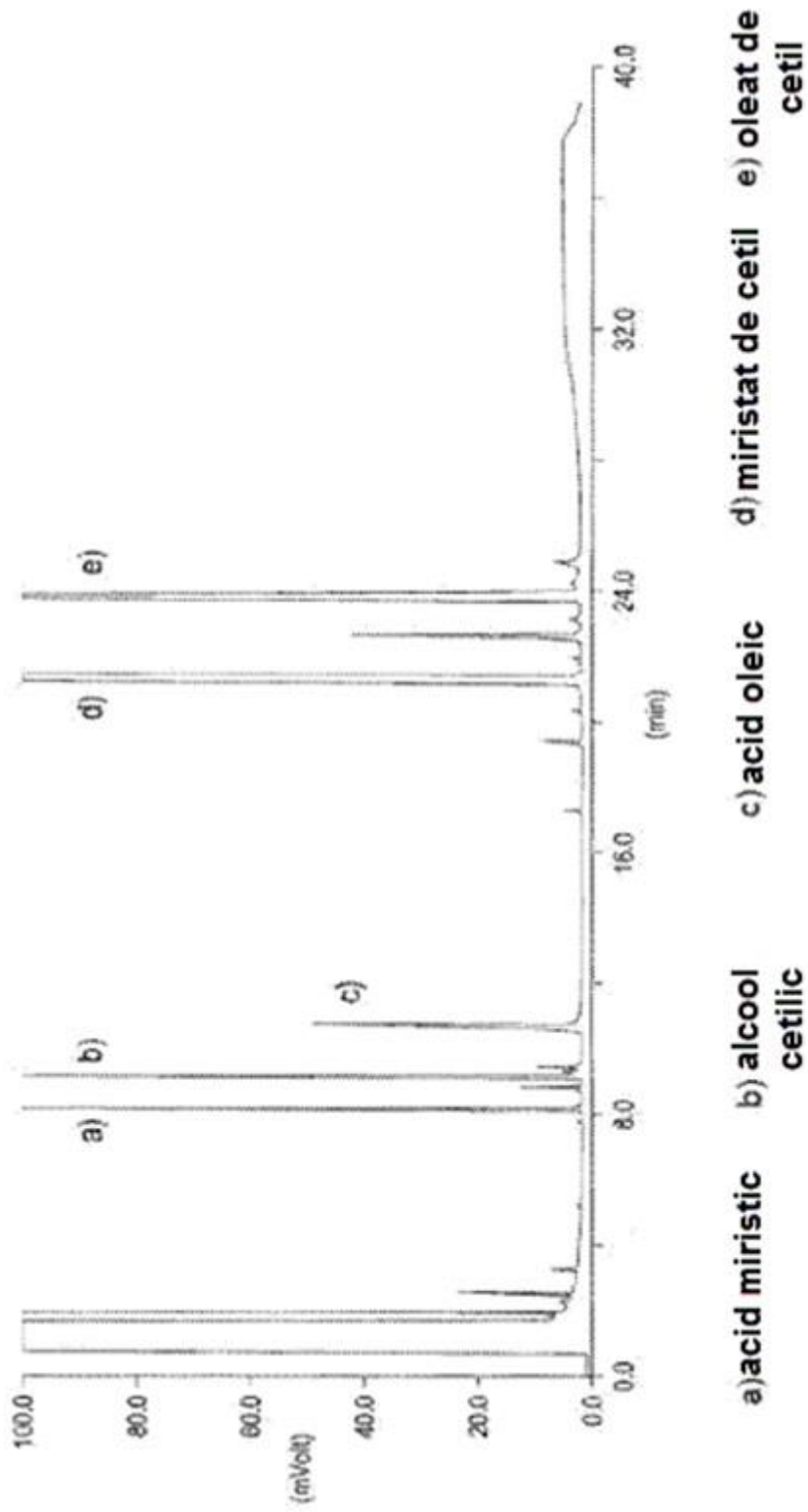


FIG.5