

Titolo: **Preparazione farmaceutica o di integratore alimentare a base di alfa-lattoalbumina**

* * * * *

DESCRIZIONE

5 Campo di applicazione

La presente invenzione riguarda il settore tecnico dell'industria farmaceutica o degli integratori alimentari.

In particolare, l'invenzione si riferisce a una composizione farmaceutica o d'integratore alimentare contenente alfa-lattoalbumina e
10 almeno un acido grasso a corta catena.

Arte nota

Recentemente l'alfa-lattoalbumina è stata proposta come integratore alimentare principalmente per la sua azione serotoninergica cerebrale.

La domanda di brevetto italiano n. GE2006A000013 a nome della
15 Richiedente riguarda per l'appunto l'uso della alfa-lattoalbumina nel trattamento di patologie neurologiche e neuropsichiatriche, quali il morbo di Parkinson, le patologie depressive e l'epilessia e il brevetto europeo n. EP 2 218 462 B1 riguarda una preparazione farmaceutica comprendente un SSRI o un SSNRI e alfa-lattoalbumina per il trattamento di patologie depressive.

20 RUOLO DELLA SEROTONINA

La serotonina è una triptamina, sintetizzata a partire dall'amminoacido essenziale triptofano, per lo più prodotta dalle cellule enterocromaffini nell'apparato gastrointestinale, dove partecipa a numerose funzioni biologiche e dai neuroni serotoninergici nel sistema nervoso centrale

25 A livello periferico, svolge numerosi funzioni di controllo. Nel tratto



gastrointestinale controlla la peristalsi, la secrezione dei fluidi, controlla la nausea e il vomito. Ha azione vasocostrittiva dei vasi sanguigni, anche quelli intracranici la cui dilatazione concorre nell'emicrania. Controlla l'aggregazione piastrinica, i processi riparativi e di omeostasi [1, 2], i processi riparativi del
5 fegato [3], del cuore [4] e controlla la termogenesi.

Anche nel sistema nervoso centrale, la serotonina svolge numerose funzioni che vanno dalla regolazione del tono dell'umore, del sonno, della temperatura corporea, della sessualità, all'empatia, funzioni cognitive, creatività e appetito.

10 Si ritiene che alterazioni patologiche nella funzionalità dei circuiti della serotonina siano coinvolte in numerosi disturbi neurologici e neuropsichiatrici come emicrania, disturbo ossessivo-compulsivo, depressione, schizofrenia, ansia, disturbi dell'umore in genere, disturbi alimentari (fame nervosa e bulimia), eiaculazione precoce maschile e fibromialgia.

15 La serotonina è perciò al centro del meccanismo d'azione di numerosi psicofarmaci, soprattutto antidepressivi (come ad esempio gli antidepressivi SSRI come Dropaxin, Prozac e Zoloft, antidepressivi triciclici e inibitori delle monoammino-ossidasi) e antipsicotici.

Recenti studi hanno rivalutato il ruolo della serotonina nell'epilessia
20 [5, 6], capovolgendolo da pro-convulsivo ad anti-convulsivo [7, 8, 9]. Il sistema serotoninergico e noradrenergico sembra proprio essere l'anello di congiunzione sia tra i meccanismi fisiopatogenetici della depressione e dell'epilessia [10, 11], sia tra i meccanismi di azione dei farmaci antidepressivi e quelli anticomiziali [12], riconfermando così il ruolo di questi due neurotrasmettitori nella
25 patogenesi della depressione, com'era suggerito dai primi studi sul dosaggio

urinario e/o liquorale dei loro cataboliti. Un potenziamento della serotonina favorirebbe, quindi, a livello cerebrale il controllo delle crisi epilettiche [13], e delle altre funzioni da essa controllate, e in modo analogo per quelle controllate nel periferico.

5 TRIPTOFANO QUALE PRECURSORE DELLA SEROTONINA

Sia a livello periferico sia nel sistema nervoso centrale la serotonina è sintetizzata a partire dall'ammino acido essenziale Triptofano, in quanto la serotonina plasmatica non è in grado di superare la barriera emato-encefalica, mentre il Triptofano, è in grado di passare la barriera ematoencefalica grazie ad un trasportatore attivo comune a tutti i "*Large Neutral Amino Acids*" (LNAAs) di cui il triptofano fa parte. Questa competizione alla captazione cerebrale fa sì che la velocità di sintesi di serotonina cerebrale, che dipende dalla quantità di Triptofano captato, sia condizionata dal rapporto plasmatico tra questo amminoacido e la somma di tutti i suoi competitori (Trp/LNAAs) [14]. Su questa base dalle misure dei rapporti plasmatici Trp/LNAAs in un gruppo di pazienti epilettici è stata stimata una riduzione di un terzo della velocità di sintesi della serotonina cerebrale rispetto ai controlli sani. (15).

 COME AUMENTARE IL TRP E QUINDI LA SEROTONINA

Somministrare oralmente il triptofano non porta a un aumento plasmatico del rapporto Trp/LNAAs, data la scarsa biodisponibilità dei singoli amminoacidi. Gli amminoacidi essenziali plasmatici derivano solo dalla demolizione di proteine della dieta [16].

Tra tutte le proteine, le sieroproteine sono quelle capaci di fornire un maggior aumento dei livelli plasmatici degli amminoacidi in quanto, non precipitando nell'ambiente acido dello stomaco, sono demolite a peptidi, che



passano liberamente la membrana intestinale. Poi nel sangue continua la demolizione a singoli amminoacidi. Per la rapidità del loro processo digestivo sono dette “fast-protein”. Le altre proteine, invece, precipitano nello stomaco e dal precipitato gli enzimi staccano principalmente singoli amminoacidi, scarsamente biodisponibili [17]. La biodisponibilità dell’alfa-lattoalbumina è massima (=1). In particolare l’alfa-lattoalbumina è demolita a medi-piccoli peptidi dopo soli 15 minuti dalla somministrazione orale, e tali peptidi poi entrano nell’intestino tenue.

Il modo migliore per aumentare il rapporto plasmatico Trp/LNAAs sembrerebbe essere quello di assumere una sieroproteina ricca di Trp e povera dei suoi competitori LNAAs.

Su queste basi è stata selezionata l’alfa-lattoalbumina come agente serotoninergico, in quanto “ricca” di triptofano e povera dei suoi competitori alla captazione cerebrale, i LNAAs, (18)

15 RISCONTRO INATTESO: PROFILO PLASMATICO TRP/LNNA

Contrariamente alle attese (conseguenti all’ipotesi di un aumento di TRP conseguente al suo rilascio da alfa-lattoalbumina) i risultati ottenuti sia in studi sperimentali sia clinici indicano come l’aumento del rapporto plasmatico triptofano/LNAAs non sia dovuto al triptofano derivante dalla demolizione dell’alfa-lattoalbumina. Infatti, dato il rapido assorbimento, si dovrebbe osservare un veloce picco plasmatico degli amminoacidi costituenti la alfa-lattoalbumina con un rapido ritorno ai valori basali in circa 20-30 minuti dalla somministrazione.

Risulta, invece, da studi con somministrazioni ripetute per più giorni di alfa-lattoalbumina, che il rapporto plasmatico Trp/LNAAs continui ad

aumentare nel tempo, tendendo ad un valore asintotico tra 0,22-0,23. [19]

Analoghi risultati sono stati ottenuti dalla Richiedente su modelli sperimentali di epilessia [20]. La Fig. 1 allegata mostra in un grafico l'andamento del rapporto plasmatico Trp/LNAAs dopo diversi giorni consecutivi di somministrazione per via orale di alfa-lattoalbumina; N=7 in ogni gruppo, dati espressi come $media \pm SEM$.

L'andamento del rapporto plasmatico Trp/LNAAs osservato è indicativo di azioni specifiche dell'alfa-lattoalbumina in tutto l'apparato digerente, atte a ridurre una disbiosi intestinale, che è responsabile di un'eccessiva decarbossilazione del triptofano in indolo e scatolo, e pertanto ad aumentare la capacità di ricavare il triptofano dalle proteine della dieta.

Anche i risultati ottenuti sia in modelli sperimentali sia nella clinica confermano la necessità di somministrazioni ripetute per più giorni. Su diversi modelli sperimentali di epilessia è stato osservato che l'azione protettiva dalle crisi si manifesta dopo almeno 6 giorni di ripetute somministrazioni, e non aumenta continuando le somministrazioni (fino a 12 giorni). Inoltre, essa non sembra dipendere dalla dose somministrata. La Fig. 2 mostra per l'appunto gli andamenti temporali della protezione contro crisi audiogenetiche in ratti geneticamente epilettici- prone-9 (GEPRs: n=5 animali per gruppo di dose e tempo); (A) risultati dopo 5 giorni consecutivi di trattamento; (B) risultati dopo 12 giorni consecutivi di trattamento. Il grafico mostra mediane \pm l'intervallo interquartile per ciascun gruppo.

Inoltre, dopo tre settimane di trattamento, l'effetto protettivo da crisi, indotte con stimolazione acustica in topi audiogenici, continua per almeno un mese dalla sospensione del trattamento, a conferma che le azioni specifiche

producono modifiche stabili nel tempo, indipendenti dalla somministrazione.
(21)

Anche nell'uomo si osserva la necessità di somministrazioni consecutive per l'ottenimento dell'effetto clinico e questo induce a pensare che
5 i risultati clinici siano dovuti ad azioni specifiche intestinali dell'alfa-lattoalbumina atte a ridurre disbiosi e infiammazione e non a un semplice rilascio di triptofano.

AZIONI INTESTINALI DELLA ALFA-LATTOALBUMINA

D'altra parte, l'alfa-lattoalbumina è molto espressa nel colostro
10 dell'uomo, e solo dell'uomo, dove svolge azioni specifiche sul digerente, atte ad attivarlo con i primi allattamenti.

E' riportato in letteratura che l'alfa-lattoalbumina potenzia tutti i processi gastrici: aumenta le prostaglandine, la secrezione di muco, di mucina, lo svuotamento gastrico [22] e la secrezione di bicarbonato e di acido dalle
15 pompe protoniche, ripristinando così un corretto pH intestinale da cui dipende una corretta simbiosi del microbiota.

Le azioni prebiotiche intestinali sono evidenziate dalla capacità di proteggere l'apparato digerente dalle ulcere indotte da stress o alcool: dopo una somministrazione di una dose di alfa-lattoalbumina, una stessa quantità di
20 alcool ingerito non produce più ulcere gastriche [23].

L'alfa-lattoalbumina ripristina anche una corretta risposta infiammatoria [24], riduce la permeabilità della membrana intestinale e ha azione antibatterica intestinale [25].

Nel loro insieme, tutte queste azioni concorrono a ridurre una disbiosi
25 intestinale, responsabile di un'eccessiva demolizione (decarbossilazione) del

triptofano in indolo e scatolo. Infatti, somministrare proteine ricche di triptofano, come griffonia o iperico, in soggetti con disbiosi intestinale, porta a un aumento dei livelli urinari d'indolo e scatolo, non di triptofano plasmatico. (26)

5 La Richiedente ha invece sorprendentemente riscontrato, tramite misurazioni dei livelli d'indolo e scatolo urinario, una progressiva riduzione di tali livelli durante un trattamento cronico con alfa-lattoalbumina.

EVIDENZA DEL RUOLO DEI PEPTIDI DERIVANTI DALLA DIGESTIONE DELL'ALFA-LATTOALBUMINA

10 Da queste considerazioni risulta evidente come le azioni specifiche dell'alfa-lattoalbumina su tutto il tratto del digerente non siano prodotte dalla sieroproteina tal quale, ma da sue frazioni peptidiche derivanti dalla sua rapida demolizione nello stomaco. A ulteriore conferma di ciò va notato che, quando la alfa-lattoalbumina viene assunta con il colostro, il neonato produce enzimi
15 salivari specifici per digerirla, in quanto il suo stomaco non è ancora in grado di farlo. Il sistema digerente si è infatti formato durante la vita intrauterina, ma non ha mai funzionato prima del primo allattamento. La digestione salivare dell'alfa-lattoalbumina produce gli specifici peptidi che hanno il compito di attivare il sistema digerente dell'uomo, e solo dell'uomo, stimolando la
20 produzione di tutto ciò che serve per processare il cibo e per proteggere i tessuti del digerente. Una volta che il sistema digerente è stato attivato, il neonato cessa la produzione degli enzimi specifici salivari e la funzione digestiva viene passata allo stomaco, che gradualmente impara a processare altri cibi più complessi durante lo svezzamento.

25 Da questo risulta che la somministrazione orale di alfa-lattoalbumina

in un sistema digerente debole, con una diminuita capacità demolitiva, possa portare alla formazione di frazioni peptidiche diverse da quelle funzionali, così come le corrette frazioni peptidiche possono non produrre risposte adeguate se le cellule del digerente sono iporesponsive, in quanto mal nutrite. Anche
5 un'inflammatione intestinale, soprattutto quella di basso grado cronica, anch'essa dovuta ad una debolezza del digerente nell'affrontare cibi complessi, riduce la possibilità di demolire correttamente l'alfa-lattoalbumina e, quindi, da questa ottenere i corretti peptidi con azioni specifiche sul sistema digerente dell'uomo. Inoltre l'inflammatione si associa e/o conduce a disbiosi intestinale,
10 essendo inflammatione e disbiosi due facce della stessa medaglia.

I LIMITI RICONTRATI: L'ALFA-LATTOALBUMINA NON AGISCE IN SISTEMI DIGERENTI DEBOLI

L'esperienza della Richiedente sull'uso di alfa-lattoalbumina come integratore alimentare ha mostrato come sorprendentemente essa faccia fatica
15 ad agire in soggetti con un sistema digerente molto debole ad esempio perché mal nutrito. Tale considerazione si è evidenziata soprattutto in soggetti che abbiano praticato per lungo periodo diete a privazione, spesso proprio indotte da incapacità a processare cibi complessi. Questo tipo di diete indebolisce il sistema digerente, che diventa sempre più debole nel processare i cibi e quindi
20 porta ad un progressivo aumento degli alimenti non tollerati.

Il continuo aumento dell'incidenza di patologie come le allergie, le intolleranze alimentari e le patologie autoimmuni mostra uno scenario di sistemi digerenti sempre più deboli nei confronti di cibi resi sempre più aggressivi anche a causa di trattamenti con radiazioni ionizzanti.
25 Parallelamente, indicazioni alimentari sbagliate, non supportate da evidenze

scientifiche, hanno concorso all'indebolimento del sistema digerente dell'uomo.

Quale sia la corretta dieta dell'uomo oggi si può evincere solo dalla conoscenza della fisiologia del sistema digerente, dal confronto con quello degli altri mammiferi e tenendo conto delle profonde modifiche che ha subito durante
5 il processo evolutivo.

Le recenti acquisizioni sul mondo microbico, che convive nel corpo umano, ci hanno fatto capire come il compito principale del sistema digerente sia quello di mantenere un ambiente confortevole per i batteri anaerobici residenti nel colon, non quello di nutrirci. È ovvio che per funzionare
10 correttamente, le sue cellule debbano essere nutrite. Le cellule di tutti i sistemi digerenti si nutrono solo di acidi grassi a corta catena ("Short Chain Fatty Acids" SCFAs), che sono ricavati diversamente, secondo le differenti preferenze alimentari, da impianti digerenti diversi nei differenti mammiferi.

Poiché l'uomo discende dalle scimmie, il suo sistema digerente era
15 simile a quello dei frugivori, costituito da un piccolo stomaco che costituisce il 15% del sistema e un lungo colon, che costituisce il 60% del sistema. Infatti, gli animali frugivori si nutrono di fibre e, tra queste, le fibre indigeribili raggiungono il colon, dove vengono fermentate dai batteri ivi residenti e trasformate in SCFAs. I roditori ricavano i preziosi SCFAs dalla fermentazione
20 della cellulosa nel cieco, che è molto sviluppato nel loro digerente, mentre nell'uomo è atrofizzato ad appendice. I carnivori predatori, che si nutrono preferibilmente delle interiora dell'animale ucciso che contengono un 60% di grassi saturi, ricavano direttamente gli SCFAs tagliando i grassi grazie ad una potente lipasi e a un grosso stomaco che costituisce il 70% del loro sistema
25 digerente, mentre il loro colon è solo il 10% del sistema digerente. I carnivori

necrofagi si nutrono di carne magra, ma solo dopo che è stata fortemente putrefatta/digerita da batteri ambientali. L'uomo, che inizialmente era principalmente frugivoro, nel corso della sua evoluzione ha imparato a ricavare gli SCFAs anche dai grassi saturi, soprattutto della carne, oltre che dalle fibre.

5 L'introduzione di cibo più aggressivo (non solo la carne) rispetto a quello per cui il digerente dell'uomo era stato progettato, ha determinato una riduzione dell'intestino per ridurre il tempo di contatto tra tale cibo e l'intestino stesso. Si è così resa disponibile maggiore energia per il cervello che è conseguentemente aumentato di dimensioni, passando dal Neanderthal al Sapiens Sapiens. Il
10 colon si è ridotto a un 15% del sistema digerente rispetto all'iniziale 60%. Lo stomaco è rimasto il 15% del sistema digerente anche dopo l'introduzione della carne, mentre il tenue si è allungato per dare tempo a una lipasi più debole di quella dei carnivori di tagliare gli acidi grassi saturi. Pertanto con il sistema digerente attuale, anche se assumesse la stessa quantità di fibre di un
15 frugivoro, l'uomo non potrebbe ricavare sufficienti nutrienti specifici del sistema digerente, (gli SCFAs), dato il numero ridotto di batteri residenti nel colon.

Questo è probabilmente il motivo per cui precedenti esperienze cliniche della Richiedente, volte a migliorare l'azione dell'alfa-lattoalbumina in
20 pazienti con sistema digerente debole, tramite somministrazione concomitante di oligofruttosaccaridi, inulina o altre fibre prebiotiche, hanno mostrato risultati non del tutto soddisfacenti.

L'uomo è potuto sopravvivere poiché ha imparato a ricavare gli acidi grassi a corta catena dai grassi saturi oltre che dalle fibre; l'accorciamento del
25 colon dal 60% al 15% dimostra che ha preferito questa seconda strada.

La demonizzazione dei grassi saturi, accusati ingiustamente di essere responsabili di un pericoloso aumento del livello plasmatico di colesterolo, che non è un grasso ma un alcool e che per un 80% non deriva dalla dieta, ha tuttavia ridotto la capacità di produrre SCFAs e quindi di nutrire le cellule del sistema digerente. Inoltre, esiste tutta una letteratura che mette in evidenza il rischio di abbassare non solo il colesterolo totale, ma anche soltanto l'LDL.

Gli acidi grassi a corta catena (SCFAs), nell'ordine dal maggiore al minore nutriente, sono: Acido Butirrico, Acido Acetico, Acido Propionico e Acido Valerico.

Gli SCFAs, oltre ad essere specifici nutrienti, aumentano la motilità intestinale stimolando la sintesi di serotonina [27], passano l'epitelio intestinale ed entrano nel sangue dove esplicano meccanismi di segnalazione cellulare: inibizione dell'istone deacetilasi (HDACs) [28] e attivazione dei G-protein-coupled receptors (GPCRs).

L'HDACs regola l'espressione genica, la sua inibizione apre ad una enorme gamma di conseguenze che devono essere per la maggior parte ancora comprese. I GPCRs sono stati identificati come recettori per gli SCFAs e sono coinvolti nella regolazione del metabolismo e dell'infiammazione [29] Gli SCFAs alterano la chemiotassi, la fagocitosi, inducono i ROS, modificano la proliferazione cellulare, hanno azioni anti-infiammatorie, antitumorali e antimicrobiche. Svolgono un ruolo importante nel mantenere l'omeostasi intestinale e immunitaria [30].

L'azione sui processi infiammatori da parte degli SCFAs è confermata dal fatto che una classe di FANS sia costituita da derivati di sintesi dell'acido acetico e propionico, mettendo in evidenza come l'azione inibitoria su HDASs

possa concorrere alla loro azione anti-infiammatoria. L'azione inibitoria del butirrico risulta essere superiore a quella dell'acetico e propionico.

L'uso dell'acido butirrico è stato proposto nelle patologie autoimmuni e infiammatorie [31], contro le infezioni batteriche [32], per ridurre la proliferazione cellulare nei tumori del colon [33] e per ridurre la glicemia, la resistenza insulinica, la dislipidemia e la gluconeogenesi in maniera confrontabile con la metformina [34, 35, 36]. L'acido butirrico mostra azione protettiva in modelli sperimentali di atrofia spinale muscolare [37], così come riduce l'atrofia muscolare da invecchiamento [38], ha azione terapeutica su riniti allergiche [39], migliora le funzioni cardiache [40], riduce l'assunzione di alcool in animali dipendenti [41] e protegge da gravi lesioni polmonari acute a distanza causate da ustioni [42].

Alla luce della recente letteratura si ritiene che così tante azioni siano dovute ad un unico effetto sul microbioma intestinale, risultante in una disinfiammazione [43, 44].

Oggi non sorprende più che a questa azione intestinale possano corrispondere azioni cerebrali, come miglioramenti comportamentali di stati ansiosi depressivi [45, 46], delle funzioni cognitive [47, 48], delle risposte allo stress [49], riduzione di comportamenti autistici [50], di psicosi maniache [51]. Dato che l'uptake cerebrale è stato misurato essere dell'ordine dello 0,006% [52], è evidente che per influenzare processi cerebrali non deve per forza entrare nel cervello, ma può agire sul sistema nervoso periferico e sul sistema immunitario.

I recettori SCFAs sono importanti regolatori di funzioni immunologiche, incluso la neuroinfiammazione, il metabolismo energetico, la

regolazione endocrina della fisiologia e del comportamento. Le risposte osservate nelle patologie psichiatriche, inclusa la depressione, ad una iperacetilazione dell'istone indotta dal butirrato, come una riduzione di un comportamento depressivo in modelli sperimentali [53], può dipendere da un
5 aumento del livello di BDNF in specifiche regioni cerebrali, come la corteccia prefrontale [54], che è probabilmente dovuta ad un'aumentata acetilazione nel gene BDNF [55].

WO 2008/138348 descrive un complesso comprendente alfa-lattoalbumina e un acido grasso o un lipide adatto per l'uso nella manifattura
10 di medicinali per il trattamento di infezioni del tratto respiratorio, cancro e verruche e per l'inibizione dell'angiogenesi.

US 6096870 descrive un metodo per la separazione di proteine del siero attraverso l'uso di cromatografia e menziona l'eluizione di alfa-lattoalbumina da una colonna a scambio ionico con una soluzione di acetato di
15 sodio.

CN 105746711 descrive un prodotto a base di latte per migliorare il sonno, il quale contiene, tra gli altri ingredienti, acido gamma-amminobutirrico.

L'esperienza della Richiedente nell'uso dell'alfa-lattoalbumina come
20 integratore alimentare ha mostrato come sia possibile recuperare una risposta clinica attraverso l'associazione di un complesso protocollo alimentare in grado di potenziare il sistema digerente dell'uomo e renderlo così più responsivo alle stimolazioni dell'alfa-lattoalbumina e conseguentemente incrementare l'assorbimento del triptofano e la sintesi di serotonina, con i conseguenti
25 benefici nella prevenzione e nel trattamento delle patologie più sopra discusse

e in generale di tutte le patologie in cui l'infiammazione tissutale è riportata esserne la causa fisiopatogenetica, provenendo questa infiammazione da una infiammazione cronica di basso grado intestinale [56]

5 Queste azioni prebiotiche intestinali sono oggi di grande interesse per il trattamento di patologie, soprattutto quelle neurologiche, per la sempre maggiore evidenza del ruolo dell'asse intestino cervello [30], ma anche per la crescente evidenza del ruolo del microbiota come ago della bilancia tra uno stato di salute o di malattia [57].

10 La Richiedente si è posta pertanto il problema di incrementare l'efficacia dell'alfa-lattoalbumina per il trattamento delle patologie sopra discusse e ha ipotizzato, quale soluzione per tale problema, di ottenere un miglioramento delle condizioni del sistema digerente, apportando a esso un corretto nutrimento e disinfiammandolo.

15 Il problema è stato risolto, secondo la presente invenzione, mettendo a disposizione una preparazione farmaceutica o di integratore alimentare includente alfa-lattoalbumina e almeno un acido grasso a corta catena scelto dal gruppo costituito da acido acetico, acido propionico, acido butirrico, acido β -idrossi- β -metilbutirrico, acido valerico e loro sali, esteri e mono-, di- e trigliceridi per l'uso nel trattamento di patologie del sistema nervoso centrale
20 (CNS) legate alla carenza di serotonina.

Tali patologie del CNS legate alla carenza di serotonina sono scelte preferibilmente dal gruppo comprendente epilessia, disturbi neuropsichiatrici del Parkinson e della corea di Huntington, depressione, ansia, psicosi dopaminamimetica, instabilità emozionale, disturbi compulsivi-ossessivi,
25 insonnia e cefalgia.

Si è infatti constatato sperimentalmente che con la somministrazione concomitante di alfa-lattoalbumina e acido grasso a corta catena o suo precursore o derivato si ottiene un effetto sinergico.

In un aspetto della presente invenzione, il suddetto almeno un acido grasso a corta catena è contenuto in almeno una prima unità di dosaggio
5 assieme ad un veicolo accettabile dal punto vista farmaceutico o alimentare e la alfa-lattoalbumina è contenuta in almeno una seconda unità di dosaggio assieme ad un veicolo accettabile dal punto vista farmaceutico o alimentare, tali unità di dosaggio essendo unità distinte destinate a una somministrazione
10 simultanea o separata.

In un altro aspetto, la preparazione farmaceutica o di integratore alimentare secondo l'invenzione è costituita da una composizione farmaceutica o di integratore alimentare comprendente il suddetto almeno un acido grasso a corta catena e l'alfa-lattoalbumina assieme ad un veicolo accettabile dal punto
15 vista farmaceutico o alimentare.

Preferibilmente, nella preparazione farmaceutica o di integratore alimentare secondo entrambi gli aspetti della presente invenzione sopra indicati, la alfa-lattoalbumina è contenuta in una quantità variabile da 0,1 a 2,0 g, più preferibilmente da 0,3 a 1,0 g per ciascuna dose. Si possono
20 somministrare da 1 a 2 dosi al giorno.

Preferibilmente, la preparazione farmaceutica o di integratore alimentare secondo la presente invenzione contiene ulteriormente magnesio e/o vitamine del gruppo B, per favorire la trasformazione del triptofano in serotonina.

25 Si utilizza di preferenza alfa-lattoalbumina di origine bovina, anche in

virtù del fatto che essa è quella con una composizione amminoacidica più simile a quella umana.

La somministrazione della composizione o delle unità di dosaggio secondo l'invenzione può avvenire attraverso diverse vie, anche se è preferita la
5 somministrazione per via orale.

Preferibilmente, la preparazione farmaceutica o d'integratore alimentare secondo la presente invenzione è adatta a una somministrazione per via orale ed è ad esempio in forma di compresse, sciroppo, capsule, compresse rivestite con film o bustine di polvere o granulato.

10 Il suddetto almeno un acido grasso a corta catena contenuto nella preparazione farmaceutica o di integratore alimentare secondo la presente invenzione è scelto preferibilmente dal gruppo comprendente acido acetico e acido β -idrossi- β -metilbutirrico e loro sali alcalini o alcalino-terrosi e loro esteri.

Tra gli esteri dell'acido butirrico sono particolarmente preferiti gli
15 esteri con il glicerolo, in particolare il gliceril tributirrato (tributirrina), il gliceril monobutirrato, l'etilbutirril lattato, il pivaloilossimetilbutirrato, l'1-ottilbutirrato, esteri butirrato di carboidrati e di polioli di carboidrati.

La tributirrina può vantaggiosamente essere utilizzata in forma di complesso con una ciclodestrina, preferibilmente come complesso tributirrina:
20 gamma-ciclodestrina 1:3 (rapporto ponderale), per ridurre il sapore amaro e l'odore poco gradevole della tributirrina.

Preferibilmente, il suddetto almeno un grasso a corta catena è contenuto nella preparazione farmaceutica o di integratore alimentare secondo la presente invenzione in una quantità variabile da 0,1 a 5,0 g, preferibilmente
25 da 0,2 a 1,0 g, per ciascuna dose.

La presente invenzione si riferisce anche ad alfa-lattoalbumina, in associazione con almeno un acido grasso a corta catena scelto dal gruppo costituito da acido acetico, acido propionico, acido butirrico, acido β -idrossi- β -metilbutirrico, acido valerico e loro sali, esteri e mono-, di- e trigliceridi per l'uso
5 nel trattamento di patologie del CNS legate alla carenza di serotonina.

Tali patologie del CNS legate alla carenza di serotonina sono scelte preferibilmente dal gruppo comprendente epilessia, disturbi neuropsichiatrici del Parkinson e della corea di Huntington, depressione, ansia, psicosi dopaminamimetica, instabilità emozionale, disturbi compulsivi-ossessivi,
10 insonnia e cefalgia.

Infine, la presente invenzione riguarda un kit per il trattamento di patologie del SNC legate a carenza di serotonina comprendente almeno una prima unità di dosaggio, contenente almeno un acido grasso a corta catena scelto dal gruppo costituito da acido acetico, acido propionico, acido butirrico,
15 acido β -idrossi- β -metilbutirrico, acido valerico e loro sali, esteri e mono-, di- e trigliceridi assieme ad un veicolo accettabile dal punto vista farmaceutico o alimentare, e almeno una seconda unità di dosaggio contenente alfa-lattoalbumina, assieme ad un veicolo accettabile dal punto vista farmaceutico o alimentare, nonché istruzioni per l'uso concomitante di dette almeno una
20 prima e almeno una seconda unità di dosaggio nel trattamento delle suddette patologie.

Tali patologie del CNS legate alla carenza di serotonina sono scelte preferibilmente dal gruppo comprendente epilessia, disturbi neuropsichiatrici del Parkinson e della corea di Huntington, depressione, ansia, psicosi
25 dopaminamimetica, instabilità emozionale, disturbi compulsivi-ossessivi,

insonnia e cefalgia.

La somministrazione dell'alfa-lattoalbumina può avvenire simultaneamente a quella dell'acido grasso a corta catena, ad esempio utilizzando forme farmaceutiche che contengono entrambi i principi attivi
5 oppure somministrando contemporaneamente due forme farmaceutiche o d'integratore alimentare che contengono rispettivamente l'una la alfa-lattoalbumina e l'altra l'acido grasso a corta catena. La somministrazione dei due principi attivi può anche avvenire a tempi differenti nel corso della giornata in base allo schema posologico stabilito dal medico.

10 La presente invenzione sarà ulteriormente descritta facendo riferimento ad alcuni esempi forniti.

Esempio 1

	alfa-lattoalbumina bovina purificata	500 mg
	acido β -idrossi- β -metilbutirrico	500 mg
15	mannitolo	50 mg
	agente aromatizzante	10 mg

Gli ingredienti in polvere sopra elencati sono stati miscelati fino a omogeneità e con la miscela ottenuta sono state riempite bustine per somministrazione orale.

20 Esempio 2

	alfa-lattoalbumina bovina purificata	800 mg
	tributirrina	300 mg
	Burro anidro	800 mg
	maltodestrine	90 mg
25	agente aromatizzante	10 mg



L'alfa-lattoalbumina è stata dispersa in acqua distillata (8% p/p) e tenuta in agitazione per 60' a temperatura ambiente e poi riscaldata a 80°C per 30' sotto agitazione. La soluzione è stata poi raffreddata e conservata a 4°C per 12 ore prima di essere riportata a 25°C. A questa soluzione vengono aggiunti il
5 burro anidro fuso e la tributirina, formando un'emulsione con l'ausilio di un dispersore (velocità 15000 giri/minuto). L'emulsione così ottenuta è stata omogeneizzata mediante un omogeneizzatore a due stadi (1° stadio 7 MPa; 2° stadio 55 MPa) e infine avviata ad un essiccatore spray (Buchi Mini Spray Dryer B-290), la cui temperatura d'ingresso era mantenuta a 160°C mentre la
10 temperatura d'uscita era di 90°C, con una pressione dell'aria compressa di 552 kPa.

All'uscita dell'essiccatore spray sono state ottenute microcapsule sferoidali con un diametro medio attorno ai 4 µm. A queste microcapsule sono stati aggiunti, all'interno di un miscelatore, l'agente aromatizzante e le
15 maltodestrine, per ottenere una dispersione uniforme, che è stata poi dosata in bustine monodose.

Esempio 3

Bustine di granulato di sodio butirrato

	Sodio butirrato	300,0 mg
20	Olio di palma idrogenato	1500 mg
	Carbonato di calcio	200 mg
	Maltodestrine	90 mg
	Agente aromatizzante	10 mg

Sono stati prodotti granuli di sodio butirrato microincapsulato
25 nell'olio di palma idrogenato, aggiungendo il sodio butirrato all'olio di palma

idrogenato e al carbonato di calcio contenuti in un miscelatore riscaldato a 70°C e si è tenuto in agitazione per circa 15 minuti. La miscela omogenea così ottenuta è stata nebulizzata mediante un apposito ugello all'interno di una camera di raffreddamento a circa -10°C, ottenendo granuli con un nucleo
5 interno a base di sodio butirrato e un rivestimento a base di lipidi e carbonato di calcio. I granuli così ottenuti sono stati miscelati uniformemente con i rimanenti ingredienti.

Bustine di α -lattoalbumina

	alfa-lattoalbumina bovina purificata	500 mg
10	fruttosio	200 mg
	agente aromatizzante	10 mg

Le bustine di alfa-lattoalbumina e le bustine di granulato di sodio butirrato sono state confezionate in una scatola di cartoncino, nella quale è stato introdotto anche un foglietto illustrativo che fornisce informazioni sulle
15 indicazioni terapeutiche, le modalità di assunzione delle due bustine e la posologia.

Gli effetti della preparazione farmaceutica secondo la presente invenzione possono essere verificati utilizzando i modelli animali di infiammazione intestinale, che dimostrano una maggiore azione
20 disinfiammante della formulazione su infiammazione indotta da agenti infiammanti come per esempio il crotoniglio o il destrano. Anche i marker dell'infiammazione intestinale, dalla PCR, la Calprotectina, al più specifico rapporto NFkB p65/Beta Actin mostrano il maggior effetto disinfiammante della formulazione secondo la presente invenzione rispetto anche alla somma
25 degli effetti dei singoli componenti. Gli stessi marker possono essere utilizzati

anche in studi clinici per misurare l'azione disinfiammante. Misure di infiammazione intestinale sono attualmente eseguite anche in studi su patologie neurologiche e comportamentali data la recente evidenza del suo comune ruolo nei meccanismi patogenetici di diverse patologie neurologiche e comportamentali. Su quest'ultime sono riportati interessanti risultati ottenuti con il trapianto di feci, a dimostrazione di come una disbiosi intestinale, indotta da un'infezione, svolga un ruolo fondamentale in queste patologie. Nostri dati clinici mostrano una stretta correlazione tra la disinfiammazione intestinale, dove il marker più sensibile si è dimostrato essere il Bristol Stool Chart test, e la riduzione degli attacchi cefalalgici in soggetti cefalalgici adolescenti.

Inoltre, gli effetti della preparazione farmaceutica secondo la presente invenzione possono essere verificati utilizzando i modelli animali correntemente impiegati per la valutazione di agenti antidepressivi, come ad esempio il test di nuoto forzato su ratti secondo Cristiano MS et al. ("Neonatal treatment with fluoxetine reduces depressive behaviour induced by forced swim in adult rats." *Arq Neuropsiquiatr* 2002; 60 (4): 928-932) o il test di nuoto forzato su topi secondo Takahiro N. et al. ("Antidepressant-like effect of apigenein and 2,4,5-trimethoxycinnamic acids from *Perilla frutescens* in the forced swimming test" *Biol. Pharm. Bull.* 2002; 26(4): 474-480) o infine il modello murino di stress cronico secondo D'Aquila PS et al. ("Effects of chronic mild stress on performance in behavioral tests relevant to anxiety and depression". *Physiol. Behav.* 1994; 56 (5): 861-867).

Infine, gli effetti della preparazione farmaceutica secondo la presente invenzione possono essere verificati utilizzando modelli animali comunemente

utilizzati per la valutazione degli agenti antiepilettici, come ad esempio quello descritto in Russo E. et al., che fa uso dell'agente convulsivante pentilentetrazolo [21].

Tali effetti sono stati verificati sperimentalmente ed i risultati sono
5 riportati nel seguente Esempio 4.

Esempio 4

L'azione anticonvulsivante di una preparazione secondo l'invenzione, costituita da alfa-lattoalbumina e butirrato di sodio, è stata valutata in
10 confronto a quella dei singoli componenti alfa-lattoalbumina e butirrato di sodio nel suddetto modello animale, utilizzando l'agente convulsivante pentilentetrazolo

L'esperimento è stato condotto su gruppi di 10 topi maschi C57BL/6 (Charles River Italy) per ciascuna dose testata (sono stati utilizzati anche gruppi di controllo di 10 topi maschi C57BL/6).

15 Agli animali di tutti i gruppi è stato somministrato per via sottocutanea pentilentetrazolo (65 mg/kg) al termine di un pretrattamento di 15 giorni con butirrato di sodio, alfa-lattoalbumina, alfa-lattoalbumina + butirrato di sodio o veicolo, cioè acqua (controllo), rispettivamente.

Questo pretrattamento è stato effettuato mediante somministrazione
20 orale di una di soluzione di butirrato di sodio, alfa-lattoalbumina, alfa-lattoalbumina + butirrato di sodio nel veicolo, costituito da acqua, e del solo veicolo (acqua).

Innanzitutto, a tre gruppi di 10 topi sono stati somministrati per via
orale, rispettivamente, 30 mg/giorno, 100 mg/giorno e 250 mg/giorno di
25 butirrato di sodio, sotto forma di soluzione acquosa contenuta nella bottiglia

della gabbia, per 15 giorni. La bottiglia della gabbia del gruppo di controllo (10 topi) conteneva solo acqua.

Il 16° giorno, agli animali dei quattro gruppi sono stati somministrati per via sottocutanea 65 mg/kg di pentilentetrazolo. Non è stata osservata alcuna differenza significativa tra i quattro gruppi, in quanto il 100% degli animali di ciascun gruppo ha manifestato convulsioni indotte dal pentilentetrazolo.

Successivamente, a tre gruppi di 10 topi sono stati somministrati per via orale, rispettivamente, 125 mg/giorno, 250 mg/giorno e 375 mg/giorno di alfa-lattoalbumina, sotto forma di soluzione acquosa contenuta nel flacone della gabbia, per 15 giorni. La bottiglia della gabbia del gruppo di controllo (10 topi) conteneva solo acqua.

Il 16° giorno, agli animali dei quattro gruppi sono stati somministrati per via sottocutanea 65 mg/kg di pentilentetrazolo (PTZ).

Come si può apprezzare dalla Figura 1, a sinistra, la percentuale di animali con crisi indotte da PTZ ha mostrato una diminuzione in modo dose-dipendente, la diminuzione maggiore è stata ottenuta con una dose di 375 mg/giorno di alfa-lattoalbumina (meno del 40% degli animali presentava convulsioni).

Infine, ad un primo gruppo di 10 topi sono stati somministrati per via orale 125 mg di alfa-lattoalbumina + 100 mg di butirrato di sodio al giorno, ad un secondo gruppo di 10 topi sono stati somministrati per via orale 250 mg di alfa-lattoalbumina + 100 mg di butirrato di sodio al giorno, ad un terzo gruppo di 10 topi sono stati somministrati per via orale 375 mg di alfa-lattoalbumina + 100 mg di butirrato di sodio al giorno, sotto forma di una soluzione acquosa

contenuta nel flacone della gabbia, per 15 giorni. La bottiglia della gabbia del gruppo di controllo (10 topi) conteneva solo acqua.

Il 16° giorno, agli animali dei quattro gruppi sono stati somministrati per via sottocutanea 65 mg/kg di pentilentetrazolo (PTZ).

5 La Figura 1, a destra, mostra una notevole diminuzione della percentuale di topi con convulsioni indotte da PTZ, la diminuzione maggiore è stata ottenuta con una dose di 375 mg/giorno di alfa-lattoalbumina + 100 mg/giorno di butirrato di sodio (meno del 20% degli animali che presentano convulsioni). Inoltre, si può osservare, rispetto ai valori riportati nella parte
10 sinistra della Figura 1, che l'aggiunta di 100 mg/giorno di butirrato di sodio determina una forte diminuzione della percentuale di animali con convulsioni indotte da PTZ a ciascuna dose di alfa-lattoalbumina. In particolare, è interessante notare che una dose di 125 mg/giorno di alfa-lattoalbumina, che non diminuisce significativamente la percentuale di topi con convulsioni indotte
15 da PTZ, quando somministrata insieme ad una dose di 100 mg/giorni di butirrato di sodio, non riduce significativamente tale percentuale.

Ciò è del tutto inaspettato, considerando che il butirrato di sodio è risultato privo di qualsiasi attività nei confronti delle convulsioni indotte dal pentilentetrazolo.

20 Riferimenti:

1) Derek A. Mann e Fiona Oakley, Serotonin paracrine signaling in tissue fibrosis, in *Biochimica et Biophysica Acta*, vol. 1832, n° 7, 2013-7, pp. 905-910);

2) Clifford J Rosen, "Breaking into bone biology: serotonin's secrets",
25 in *Nature Medicine*, vol. 15, n° 2, pp. 145-146;

- 3) Ramadhan B. Matondo, Carine Punt e Judith Homberg, "Deletion of the serotonin transporter in rats disturbs serotonin homeostasis without impairing liver regeneration", in American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology, vol. 296, n° 4, 1° aprile 2009, pp. G963-5 G968,
- 4) Marieb, Elaine Nicpon, 1936-, "Essentials of human anatomy & physiology", 9th ed, Pearson/Benjamin Cummings, 2009.
- 5) Jobe PC. Affective disorder and epilepsy comorbidity: implications for development of treatments, preventions and diagnostic approaches. Clin EEG Neurosci. 2004 Jan;35(1):53-68
- 6) Statnick MA, Maring-Smith ML, Clough RW, Wang C, Dailey JW, Jobe PC, Browning RA. Effect of 5,7-dihydroxytryptamine on audiogenic seizures in genetically epilepsy-prone rats. Life Sci. 1996;59(21):1763-71.
- 7) Jobe PC, Browning RA. The serotonergic and noradrenergic effects of antidepressant drugs are anticonvulsant, not proconvulsant. Epilepsy Behav. 2005 Dec;7(4):602-19
- 8) Favale E, Rubino V, Mainardi P, Lunardi G, Albano C. Anticonvulsant effect of fluoxetine in humans. Neurology. 1995 Oct;45(10):1926-7.
- 9) Albano C, Cupello A, Mainardi P, Scarrone S, Favale E. Successful treatment of epilepsy with serotonin reuptake inhibitors: proposed mechanism. Neurochem Res. 2006 Apr;31(4):509-14
- 10) Jobe PC. Common pathogenic mechanisms between depression and epilepsy: an experimental perspective. Epilepsy Behav. 2003 Oct;4 Suppl 3:S14-24.

11) Jobe PC, Dailey JW, Wernicke JF. A noradrenergic and serotonergic hypothesis of the linkage between epilepsy and affective disorders. Crit Rev Neurobiol. 1999;13(4):317-56

12) Jobe PC. Shared mechanisms of antidepressant and antiepileptic treatments: drugs and devices. Clin EEG Neurosci. 2004 Jan;35(1):25-37.

13) Mainardi P, Leonardi A, Albano C. Potentiation of brain serotonin activity may inhibit seizures, especially in drug-resistant epilepsy. Med Hypotheses. 2008;70(4):876-9.

14) Fernstrom JD, Wurtman RJ. Brain serotonin content: physiological regulation by plasma neutral amino acids. Science. 1972 Oct 27;178(4059):414-6.

15) Lunardi G, Mainardi P, Rubino V, Fracassi M, Pioli F, Cultrera S, Albano C. Tryptophan and epilepsy. Adv Exp Med Biol. 1996;398:101-2

16) Heuther G, Hajak G, Reimer A, Poeggeler B, Biamer M, Rodenbeck A, Rather E. The metabolic fate of infused L-tryptophan in men: possible clinical implications of the accumulation of circulating tryptophan and tryptophan metabolites. Psychopharmacology (Berl). 1992;109(4):422-32.

17) Frenhani PB, Burini RC. Mechanism of action and control in the digestion of proteins and peptides in humans. Arq Gastroenterol. 1999 Jul-Sep;36(3):139-47

18) Markus CR, Klöpping-Ketelaars WI, Pasman W, Klarenbeek B, van den Berg H. Dose-Dependent Effect of α -Lactalbumin in Combination with Two Different Doses of Glucose on the Plasma Trp/LNAA Ratio. Nutr Neurosci. 2000;3 (5):345-55.

19) Feurté, Sébastien & Gerozissis, Kyriaki & Regnault, Alain & M.

Paul, François. (2001). Plasma Trp/LNAA Ratio Increases During Chronic Ingestion of An alpha-lactalbumin Diet in Rats. *Nutritional neuroscience*. 4. 413-8.

20) Citraro R, Scicchitano F, De Fazio S, Raggio R, Mainardi P,
5 Perucca E, De Sarro G, Russo E. Preclinical activity profile of α -lactoalbumin, a whey protein rich in tryptophan, in rodent models of seizures and epilepsy. *Epilepsy Res*. 2011 Jun;95(1-2):60-9.

21) Russo E, Scicchitano F, Citraro R, Aiello R, Camastra C, Mainardi P, Chimirri S, Perucca E, Donato G, De Sarro G. Protective activity of α -
10 lactoalbumin (ALAC), a whey protein rich in tryptophan, in rodent models of epileptogenesis. *Neuroscience*. 2012 Dec 13;226:282-8

22) Ushida Y, Shimokawa Y, Matsumoto H, Toida T, Hayasawa H. Effects of bovine alpha-lactalbumin on gastric defense mechanisms in naive rats. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2003 Mar;67(3):577-83

15 23) Matsumoto H, Shimokawa Y, Ushida Y, Toida T, Hayasawa H. New biological function of bovine alpha-lactalbumin: protective effect against ethanol- and stress-induced gastric mucosal injury in rats. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2001 May;65(5):1104-11

24) Rusu D, Drouin R, Pouliot Y, Gauthier S, Poubelle PE. A bovine
20 whey protein extract stimulates human neutrophils to generate bioactive IL-1Ra through a NF-kappaB- and MAPK-dependent mechanism. *J Nutr*. 2010 Feb;140(2):382-91

25) Pellegrini A, Thomas U, Bramaz N, Hunziker P, von Fellenberg R. Isolation and identification of three bactericidal domains in the bovine alpha-lactalbumin molecule. *Biochim Biophys Acta*. 1999 Feb 2;1426(3):439-48

26) Marja-Leena Koskiniemi, Journal of the Neurological Sciences, Volume 47, Issue 1, July 1980, Pages 1-6)

27) Fukumoto, S., Tatewaki, M., Yamada, T., Fujimiya, M., Mantyh, C., Voss, M., Eubanks, S., Harris, M., Pappas, T.N., Takahashi, T., 2003. Short-chain fatty acids stimulate colonic transit via intraluminal 5-HT release in rats. Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 284, R1269eR1276

28) Davie JR. Inhibition of histone deacetylase activity by butyrate. J Nutr. 2003 Jul;133(7 Suppl):2485S-2493S

29) Vinolo MA, Rodrigues HG, Nachbar RT, Curi R. Regulation of inflammation by short chain fatty acids. Nutrients. 2011 Oct;3(10):858-76

30) Sekirov I, Russell SL, Antunes LC, Finlay BB. Gut microbiota in health and disease. Physiol Rev. 2010 Jul;90(3):859-904

31) Richards JL, Yap YA, McLeod KH, Mackay CR, Mariño E. Dietary metabolites and the gut microbiota: an alternative approach to control inflammatory and autoimmune diseases. Clin Transl Immunology. 2016 May 13;5(5):e82.

32) Corrêa RO, Vieira A, Sernaglia EM, Lancellotti M, Vieira AT, Avila-Campos MJ, Rodrigues HG, Vinolo MA. Bacterial short-chain fatty acid metabolites modulate the inflammatory response against infectious bacteria. Cell Microbiol. 2017 Jul;19(7)

33) Han R, Sun Q, Wu J, Zheng P, Zhao G. Sodium Butyrate Upregulates miR-203 Expression to Exert Anti-Proliferation Effect on Colorectal Cancer Cells. Cell Physiol Biochem. 2016;39(5):1919-1929.

34) Khan S, Jena G. Sodium butyrate reduces insulin-resistance, fat accumulation and dyslipidemia in type-2 diabetic rat: A comparative study with

metformin. *Chem Biol Interact.* 2016 Jul 25;254:124-34

35) Khan S, Jena G. The role of butyrate, a histone deacetylase inhibitor in diabetes mellitus: experimental evidence for therapeutic intervention. *Epigenomics.* 2015;7(4):669-80.

5 36) Newman JC, Verdin E. β -hydroxybutyrate: much more than a metabolite. *Diabetes Res Clin Pract.* 2014 Nov;106(2):173-81

37) Butchbach ME, Lumpkin CJ, Harris AW, Saieva L, Edwards JD, Workman E, Simard LR, Pellizzoni L, Burghes AH. Protective effects of butyrate-based compounds on a mouse model for spinal muscular atrophy. *Exp Neurol.* 10 2016 May;279:13-26.

38) Walsh ME, Bhattacharya A, Sataranatarajan K, Qaisar R, Sloane L, Rahman MM, Kinter M, Van Remmen H. The histone deacetylase inhibitor butyrate improves metabolism and reduces muscle atrophy during aging. *Aging Cell.* 2015 Dec;14(6):957-70.

15 39) Wang J, Wen L, Wang Y, Chen F. Therapeutic Effect of Histone Deacetylase Inhibitor, Sodium Butyrate, on Allergic Rhinitis In Vivo. *DNA Cell Biol.* 2016 Apr;35(4):203-8

40) Chen Y, Du J, Zhao YT, Zhang L, Lv G, Zhuang S, Qin G, Zhao TC. Histone deacetylase (HDAC) inhibition improves myocardial function and 20 prevents cardiac remodeling in diabetic mice. *Cardiovasc Diabetol.* 2015 Aug 7;14:99

41) Simon-O'Brien E, Alaux-Cantin S, Warnault V, Buttolo R, Naassila M, Vilpoux C. The histone deacetylase inhibitor sodium butyrate decreases excessive ethanol intake in dependent animals. *Addict Biol.* 25 Jul;20(4):676-89.

42) Liang X, Wang RS, Wang F, Liu S, Guo F, Sun L, Wang YJ, Sun YX, Chen XL. Sodium butyrate protects against severe burn-induced remote acute lung injury in rats. PLoS One. 2013 Jul 11;8(7):e68786

43) Mishiro T, Kusunoki R, Otani A, Ansary MM, Tongu M, Harashima N, Yamada T, Sato S, Amano Y, Itoh K, Ishihara S, Kinoshita Y. Butyric acid attenuates intestinal inflammation in murine DSS-induced colitis model via milk fat globule-EGF factor 8. Lab Invest. 2013 Jul;93(7):834-43.

44) Arpaia N, Rudensky AY. Microbial metabolites control gut inflammatory responses. Proc Natl Acad Sci U S A. 2014 Feb 11;111(6):2058-9.

45) Resende WR, Valvassori SS, Réus GZ, Varela RB, Arent CO, Ribeiro KF, Bavaresco DV, Andersen ML, Zugno AI, Quevedo J. Effects of sodium butyrate in animal models of mania and depression: implications as a new mood stabilizer. Behav Pharmacol. 2013 Oct;24(7):569-79

46) Pandey K, Sharma KP, Sharma SK. Histone deacetylase inhibition facilitates massed pattern-induced synaptic plasticity and memory. Learn Mem. 2015 Sep 15;22(10):514-8.

47) Valvassori SS, Varela RB, Arent CO, Dal-Pont GC, Bobsin TS, Budni J, Reus GZ, Quevedo J. Sodium butyrate functions as an antidepressant and improves cognition with enhanced neurotrophic expression in models of maternal deprivation and chronic mild stress. Curr Neurovasc Res. 2014;11(4):359-66.

48) Blank M, Werenicz A, Velho LA, Pinto DF, Fedi AC, Lopes MW, Peres TV, Leal RB, Dornelles AS, Roesler R. Enhancement of memory consolidation by the histone deacetylase inhibitor sodium butyrate in aged rats.

Neurosci Lett. 2015 May 6;594:76-81

49) Gagliano H, Delgado-Morales R, Sanz-Garcia A, Armario A. High doses of the histone deacetylase inhibitor sodium butyrate trigger a stress-like response. *Neuropharmacology*. 2014 Apr;79:75-82

5 50) Kratsman N, Getselter D, Elliott E. Sodium butyrate attenuates social behavior deficits and modifies the transcription of inhibitory/excitatory genes in the frontal cortex of an autism model. *Neuropharmacology*. 2016 Mar;102:136-45.

51) Valvassori SS, Dal-Pont GC, Steckert AV, Varela RB, Lopes-
10 Borges J, Mariot E, Resende WR, Arent CO, Carvalho AF, Quevedo J. Sodium butyrate has an antimanic effect and protects the brain against oxidative stress in an animal model of mania induced by ouabain. *Psychiatry Res*. 2016 Jan 30;235:154-9.

52) Kim, S.W., Hooker, J.M., Otto, N., Win, K., Muench, L., Shea, C.,
15 Carter, P., King, P., Reid, A.E., Volkow, N.D., Fowler, J.S., 2013. Whole-body pharmacokinetics of HDAC inhibitor drugs, butyric acid, valproic acid and 4-phenylbutyric acid measured with carbon-11 labeled analogs by PET. *Nucl. Med. Biol.* 40, 912e918

53) Schroeder, F.A., Lin, C.L., Crusio, W.E., Akbarian, S., 2007.
20 Antidepressant-like effects of the histone deacetylase inhibitor, sodium butyrate, in the mouse. *Biol. Psychiatry* 62, 55e64

54) Wei, Y., Melas, P.A., Wegener, G., Mathe, A.A., Lavebratt, C.,
2015. Antidepressant-like effect of sodium butyrate is associated with an increase in TET1 and in 5- hydroxymethylation levels in the Bdnf gene. *Int. J. Neuropsychopharmacol. Off. Sci. J. Coll. Int. Neuropsychopharmacol. CINP* 18.

55) Intlekofer, K.A., Berchtold, N.C., Malvaez, M., Carlos, A.J., McQuown, S.C., Cunningham, M.J., Wood, M.A., Cotman, C.W., 2013. Exercise and sodium butyrate transform a subthreshold learning event into long-term memory via a brain-derived neurotrophic factor-dependent mechanism. *Neuropsychopharmacol. Off. Publ. Am. Coll. Neuropsychopharmacol.* 38, 2027e2034.

56) Riazi K, Galic MA, Pittman QJ. Contributions of peripheral inflammation to seizure susceptibility: cytokines and brain excitability. *Epilepsy Res.* 2010 Mar;89(1):34-42.9

10 57) Chow J, Lee SM, Shen Y, Khosravi A, Mazmanian SK. Host-bacterial symbiosis in health and diseases. *Adv.Immunol.* 2010; 107:243-74

RIVENDICAZIONI

1. Preparazione farmaceutica o di integratore alimentare includente α -lattoalbumina e almeno un acido grasso a corta catena scelto dal gruppo costituito da acido propionico, acido butirrico, acido β -idrossi- β -metilbutirrico, 5 acido valerico e loro sali, esteri e mono-, di- e trigliceridi per l'uso nel trattamento di patologie del sistema nervoso centrale (CNS) legate alla carenza di serotonina.

2. Preparazione farmaceutica o di integratore alimentare per l'uso secondo la rivendicazione 1, in cui dette patologie del CNS legate alla carenza 10 di serotonina sono scelte dal gruppo comprendente epilessia, disturbi neuropsichiatrici del Parkinson e della corea di Huntington, depressione, ansia, psicosi dopaminamimetica, instabilità emozionale, disturbi compulsivi-ossessivi, insonnia e cefalgia.

3. Preparazione farmaceutica o di integratore alimentare per l'uso secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1 e 2, in cui detto almeno un acido 15 grasso a corta catena è contenuto in almeno una prima unità di dosaggio assieme ad un veicolo accettabile dal punto vista farmaceutico o alimentare e la α -lattoalbumina è contenuta in almeno una seconda unità di dosaggio, facoltativamente contenente magnesio e/o vitamine del gruppo B, assieme ad 20 un veicolo accettabile dal punto vista farmaceutico o alimentare, dette unità di dosaggio essendo unità distinte destinate ad una somministrazione simultanea o separata.

4. Preparazione farmaceutica o di integratore alimentare per l'uso secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1 e 2, costituita da una composizione 25 farmaceutica o di integratore alimentare comprendente detto almeno un acido

grasso a corta catena e detta α -lattoalbumina assieme ad un veicolo accettabile dal punto vista farmaceutico o alimentare.

5 5. Preparazione secondo la rivendicazione 3, in cui la α -lattoalbumina è contenuta in una quantità variabile da 0,1 a 2,0 g, preferibilmente da 0,3 a 1,0 g.

6. Preparazione secondo la rivendicazione 4, in cui la α -lattoalbumina è contenuta in una quantità variabile da 0,1 a 2,0 g, preferibilmente da 0,3 a 1,0 g.

10 7. Preparazione secondo la rivendicazione 4 o 6, in cui detta composizione farmaceutica o di integratore alimentare comprende ulteriormente magnesio e/o vitamine del gruppo B.

8. Preparazione secondo una qualunque delle precedenti rivendicazioni, caratterizzata dal fatto di essere adatta ad una somministrazione per via orale.

15 9. Preparazione secondo la rivendicazione 4 o 6, in cui detta composizione farmaceutica o di integratore alimentare è in forma di compresse, sciroppo, capsule, compresse rivestite con film o bustine di polvere o granulato.

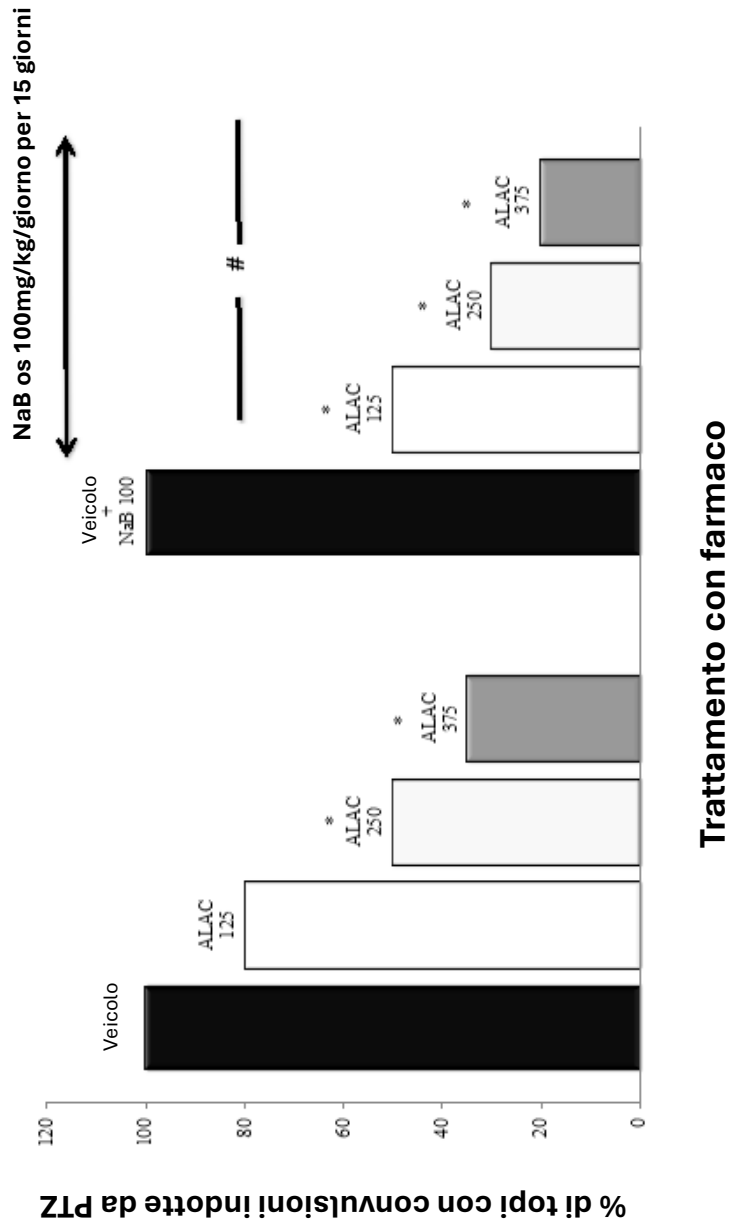
20 10. Preparazione secondo la rivendicazione 3, 5 o 7, in cui dette almeno una prima e almeno una seconda unità di dosaggio sono indipendentemente in forma di compresse, capsule, compresse rivestite con film o bustine di polvere o granulato.

25 11. Preparazione secondo una qualunque delle precedenti rivendicazioni, in cui detto almeno un acido grasso a corta catena è scelto dal gruppo costituito da acido butirrico e acido β -idrossi- β -metilbutirrico e loro sali alcalini o alcalino-terrosi e loro esteri con il glicerolo, preferibilmente tra sodio

butirrato, gliceril tributirrato e gliceril monobutirrato, esteri butirrato di carboidrati e di polioli di carboidrato, detto almeno un grasso a corta catena essendo preferibilmente contenuto in una quantità variabile da 0,1 a 5,0 g, più preferibilmente da 0,2 a 1,0 g.

- 5 12. α -Lattoalbumina per l'uso in associazione con almeno un acido grasso a corta catena scelto dal gruppo costituito da acido propionico, acido butirrico, acido β -idrossi- β -metilbutirrico, acido valerico e loro sali, esteri e mono-, di- e trigliceridi nel trattamento di patologie del SNC legate a carenza di serotonina.
- 10 13. α -Lattoalbumina per l'uso secondo la rivendicazione 12, in cui dette patologie del SNC legate a carenza di serotonina sono scelte dal gruppo costituito da epilessia, disturbi neuropsichiatrici del Parkinson e della corea di Huntington, depressione, ansia, psicosi dopaminamimetica, instabilità emozionale, disturbi compulsivi-ossessivi, insonnia e cefalgia.
- 15 14. Kit per l'uso nel trattamento di patologie del SNC legate a carenza di serotonina, comprendente almeno una prima unità di dosaggio, contenente almeno un acido grasso a corta catena scelto dal gruppo costituito da acido propionico, acido butirrico, acido β -idrossi- β -metilbutirrico, acido valerico e loro sali, esteri e mono-, di- e trigliceridi, assieme ad un veicolo accettabile dal
20 punto vista farmaceutico o alimentare, e almeno una seconda unità di dosaggio contenente α -lattoalbumina, assieme ad un veicolo accettabile dal punto vista farmaceutico o alimentare, nonché istruzioni per l'uso concomitante di dette almeno una prima e almeno una seconda unità di dosaggio nel trattamento delle suddette patologie.
- 25 15. Kit per l'uso secondo la rivendicazione 14, in cui dette patologie

del SNC legate a carenza di serotonina sono scelte dal gruppo dal gruppo costituito da epilessia, disturbi neuropsichiatrici del Parkinson e della Corea di Huntington, depressione, ansia, psicosi dopaminamimetica, instabilità emozionale, disturbi compulsivi-ossessivi, insonnia e cefalgia.



*Significativo rispetto al gruppo di controllo rilevante

Fig. 1

Mylo Montebello