(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 391 305**

(51) Int. Cl.:
A61K 31/202 (2006.01)
A61P 17/00 (2006.01)
A61K 31/616 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Número de solicitud europea: **07727878 .6**
(96) Fecha de presentación: **05.04.2007**
(97) Número de publicación de la solicitud: **2004169**
(97) Fecha de publicación de la solicitud: **24.12.2008**

(54) Título: **Composición oral que comprende un ácido graso poliinsaturado y ácido salicílico para obtener un efecto antiinflamatorio en la piel**

(30) Prioridad:
12.04.2006 EP 06252027
12.02.2007 EP 07102129

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:
23.11.2012

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:
23.11.2012

(73) Titular/es:
UNILEVER N.V. (100.0%)
Weena 455
3013 AL Rotterdam , NL

(72) Inventor/es:
CASEY, JOHN;
JAMES, ALEXANDER GORDON;
JENKINS, GAIL y
WAINWRIGHT, LINDA JANE

(74) Agente/Representante:
CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 391 305 T3

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

DESCRIPCIÓN

Composición oral que comprende un ácido graso poliinsaturado y ácido salicílico para obtener un efecto anti-inflamatorio en la piel

La presente invención se refiere a una composición para el consumo oral que, cuando es tomada oralmente, puede tener beneficios para la piel, y al uso de una combinación de compuestos activos.

La mejora de la apariencia y de la sensación de la piel humana ha recibido muchísimo esfuerzo de investigación. Sin embargo, la gran mayoría de los productos disponibles comercialmente abordan este problema actuando sobre el exterior de la piel, siendo la forma más común una crema tópica para la piel. Sin embargo, dichas aplicaciones tópicas tienen sus limitaciones y tratan, principalmente, las capas superficiales muertas de la piel. Se sabe que ciertos ingredientes, al ser ingeridos, pueden proporcionar mejoras en la apariencia y la textura de la piel. De esta manera, dichos ingredientes actúan desde el interior de la piel y, por lo tanto, pueden proporcionar mayores oportunidades para la mejora de la piel accediendo a la parte interior viva. Además, dicho efecto puede ser percibido, por el público en general, como de naturaleza más potente o médica que una aplicación tópica.

Se sabe que el aceite de pescado dietético transmite una protección considerable contra el eritema inducido por radiación UV tras su ingestión.

La solicitud internacional No. PCT/EP2005/011658, de los presentes inventores, en tramitación junto con la presente patente, se refiere a emulsiones estables consumibles.

Serhan et al, J Exp. Med., 196, No. 8, 21 de octubre de 2002, 1.025-1.037, divulga la posibilidad de formar mediadores anti-inflamatorios a partir de ácido docosahexaenoico (DHA) en presencia de ácido acetilsalicílico (aspirina). El mecanismo implicado en la producción de los mediadores anti-inflamatorios requiere la acetilación de la enzima ciclooxigenasa-2 (COX-2) y, por lo tanto, el grupo acetilo en la aspirina es esencial. Los efectos relacionados con el ácido eicosapentaenoico (EPA) se describen en Arita et al, JEM, 201, No. 5, 7 de Marzo de 2005, 713-722 y en R&D Systems, Cytokine Bulletin, Noviembre de 2005 (Abingdon, Reino Unido).

El documento US 2002/0054918 divulga composiciones tópicas para el tratamiento de afecciones inflamatorias de la piel. Las composiciones pueden ser usadas junto con composiciones administradas oralmente, que contienen aceites de pescado o aspirina.

El documento US 2004/0258645 divulga un kit de cuidado personal que tiene contenedores separados que comprende una composición tópica y un producto adecuado para el consumo oral.

El documento WO 02/11564 describe un suplemento nutricional para la diabetes de tipo 2. Los suplementos pueden contener aceite de pescado o aspirina, como componentes activos opcionales. Las composiciones según este documento incluyen ácido salicílico, pero es evidente que el documento sólo contempla o pretende la inclusión como un compuesto activo de ácido acetilsalicílico, es decir, aspirina, en sus composiciones.

El documento WO 01/80870 se refiere a composiciones terapéuticamente útiles derivadas del pomelo o del arándano rojo. Se dice que las composiciones son útiles en el tratamiento del cáncer y la hipercolesterolemia. Los extractos de arándano rojo contienen compuestos fenólicos y flavonoides y no se hace mención al ácido salicílico o a sus derivados.

Sigue existiendo una necesidad de composiciones administradas oralmente, que tengan propiedades mejoradas para impartir beneficios a la piel del consumidor.

El documento US 2002/0169209 describe formulaciones farmacéuticas que comprenden al menos el 70% de ácido eicosapentaenoico o derivado del ácido, menos del 10% de ácido docosahexaenoico o derivado del ácido y menos del 10% de ácido linoleico o derivado del ácido, combinados en la misma forma farmacéutica o el mismo envase con un inhibidor de enzima de COX-1 y/o COX-2, LOX o una o más de las enzimas FACL.

Según la invención, en un primer aspecto, se proporciona una composición que está adaptada para el consumo oral, que comprende ácido salicílico, un éster de alquilo C1 a C6 del mismo o una sal del mismo, y un ácido graso poliinsaturado, en la que el ácido graso poliinsaturado es ácido docosahexaenoico (DHA).

En otro aspecto, la invención proporciona una composición según el primer aspecto, que se encuentra en la forma de una emulsión, suspensión o dispersión acuosa, sustancialmente homogénea, para su uso en la obtención de un efecto anti-inflamatorio en la piel, en la que el ácido graso poliinsaturado es ácido docosahexaenoico (DHA).

La invención se basa en el descubrimiento inesperado de un efecto sinérgico entre el ácido salicílico y el ácido docosahexaenoico. Este efecto es particularmente sorprendente ya que la divulgación en la técnica indicaba que el grupo acetilo en la aspirina era esencial para la actividad anti-inflamatoria. Ahora, se ha descubierto que el ácido salicílico puede

exhibir un efecto anti-inflamatorio con el ácido docosahexanoico cuando no está acetilado.

De esta manera, la composición de la invención comprende ácido salicílico o un éster C1 a C6 del mismo (es decir, sin un grupo hidroxilo fenólico acetilado) o una sal del mismo y ácido docosahexaenoico. Es preferente que el ácido salicílico, o un éster de alquilo C1 a C6 o una sal del mismo, y el ácido docosahexaenoico estén presentes en una cantidad suficiente para exhibir un efecto anti-inflamatorio sobre la piel.

Las composiciones de la invención son composiciones orales, es decir, están adaptadas para el consumo oral. Como tales, las composiciones son comestibles y no tóxicas.

La composición comprende, preferentemente, uno o más componentes adicionales seleccionados de entre antioxidantes, agentes aromatizantes, conservantes y estabilizantes.

La composición de la invención puede tomar cualquier forma adecuada, incluyendo, por ejemplo, productos alimenticios y suplementos nutricionales. Las composiciones para el consumo oral incluyen bebidas, barras y otras formas líquidas y sólidas, tales como comprimidos, píldoras, cápsulas y polvos (que pueden contener material cristalino), así como alimentos para untar, margarinas, cremas, salsas, aderezos, mayonesas, helados, rellenos, dulces y cereales.

Preferentemente, las composiciones de la invención se encuentran en forma de una emulsión, suspensión o dispersión acuosa, sustancialmente homogénea.

En una realización de la invención, la composición de la invención es comestible y, preferentemente, está basada en agua, es decir, comprende al menos el 50% en peso de agua, preferentemente, al menos el 60% en peso o incluso al menos el 70% en peso de agua. El agua puede ser añadida o puede proceder de un producto natural que contiene el ácido salicílico o éster del mismo y/o DHA. Puede ser líquido o puede estar congelado. De esta manera, el producto da la sensación de ser un producto regular, basado en agua, y puede ser consumido de manera regular como parte de la dieta normal del consumidor. Por ejemplo, podría reemplazar a un zumo de fruta consumido normalmente a la hora del desayuno. La composición de la invención está envasada, preferentemente, como una bebida, por ejemplo, en un contenedor tal como una caja de cartón o una botella de papel revestido o cartón, vidrio o plástico. Preferentemente, el contenedor tiene un volumen de 10 a 500 ml, tal como de 20 a 100 ml.

En una realización alternativa, la composición de la invención está contenida en una cápsula. Típicamente, el ácido salicílico o éster del mismo estará, entonces, en una forma más concentrada. La cápsula puede estar realizada en cualquier material adecuado bien conocido en la técnica, tal como gelatina. La cápsula está adaptada para ser tragada por el consumidor y, típicamente, se tomarán una o dos cápsulas, de una a cuatro veces al día. Cada cápsula comprende, preferentemente, de 10 a 4.000 mg de ácido docosahexaenoico (más preferentemente, de 10 a 3.000 mg o de 20 a 2.000 mg o de 20 a 1.000 mg, incluso más preferentemente, de 50 mg a 500 mg) y de 1 a 100 mg de ácido salicílico o un éster de salicilato, o una mezcla de los mismos (preferentemente, de 2 mg a 50 mg, tal como de 3 mg a 30 mg o de 4 mg a 20 mg).

En una realización adicional contemplada, cuando la composición de la invención es proporcionada como un comprimido, líquido, cápsulas o polvos, los ingredientes activos en la invención pueden ser distribuidos en diferentes cápsulas, comprimidos, píldoras o polvos, de manera que, por ejemplo, puede proporcionarse al usuario un comprimido, cápsula, píldora o polvo que contiene el ácido salicílico o éster/sal de ácido salicílico, y otro comprimido, cápsula, píldora o polvo que contiene el ácido docosahexaenoico. En tal caso, idealmente, el usuario recibe también instrucciones para tomar los líquidos, cápsulas, píldoras o polvos según un régimen de dosificación, que puede implicar tomar los mismos en la misma dosis, es decir, al mismo tiempo o en sucesión rápida.

En todavía una realización adicional, la composición de la invención puede estar incluida como un componente de un producto alimenticio complejo. Por ejemplo, la composición puede estar presente en una forma sólida o gelatinosa, como un relleno o una capa dentro de una barra, o un producto similar. Por lo tanto, la composición de la invención puede estar incluida en una amplia gama de productos alimenticios cotidianos, por ejemplo, en barras de "alimentos naturales", que podrían ser ingeridos como una alternativa a otros aperitivos alimenticios.

Las composiciones de la invención comprenden ácido salicílico, o un éster de alquilo C1 a C6 del mismo. El término "alquilo" incluye grupos ramificados o no ramificados, saturados. Los grupos alquilo típicos son metilo y etilo.

El ácido salicílico, los ésteres o las sales del mismo, que están presentes en las composiciones de la invención pueden tener, y preferentemente tienen, un grupo hidroxilo fenólico libre (por ejemplo, no sustituido) y no incluyen derivados acetilados de ácido salicílico o sus ésteres, tales como aspirina. El elemento ácido salicílico, éster o sales del mismo, en las reivindicaciones, excluye específicamente la aspirina. La sal de salicilato puede ser, típicamente, salicilato de sodio o de potasio.

Las composiciones de la invención comprenden, preferentemente, ácido salicílico, un éster de C1 a C6 o una sal del

mismo, o una mezcla del ácido, uno o más ésteres y/o una o más sales, en una cantidad del 0,00002% al 1% en peso, más preferentemente, del 0,00004% al 0,05%, tal como del 0,0002% al 0,001% en peso.

Preferentemente, las composiciones de la invención comprenden de 0,1 a 100 mg de ácido salicílico, un éster de salicilato o una sal de salicilato, o una mezcla de los mismos (preferentemente de 1 mg a 50 mg, tal como de 3 mg a 30 mg o de 4 mg a 20 mg).

Preferentemente, el ácido salicílico, éster o sal del mismo, está presente como un componente de un producto natural o un extracto o concentrado del mismo.

El producto natural es, preferentemente, un material vegetal, por ejemplo frutas, más preferentemente, bayas y especias, tales como comino. Un ejemplo de un producto natural adecuado es el zumo de arándano rojo; también puede usarse polvo de arándano rojo. Otras fuentes naturales de ácido salicílico, sus ésteres y sales de salicilato, son el regaliz y hierbas, tales como el orégano, el romero y el tomillo.

Las composiciones de la invención comprenden un ácido docosahexaenoico. El ácido graso puede estar presente como un ácido libre, un éster de alquilo C1 a C6, un glicérido (incluyendo mono-, di- y tri-glicéridos), o una mezcla de los mismos. La referencia, en la presente memoria, al ácido docosahexaenoico incluye no sólo el ácido libre, sino también ésteres, glicéridos y mezclas. El DHA está presente, preferentemente, en forma de aceite de pescado o tiene su origen en fuentes microbianas.

El DHA es un ácido graso ω-3, poliinsaturado, de 22 átomos de carbono. Está presente, también, abundantemente, en ciertos pescados (tales como el atún y el pescado azul) y en aceites de animales marinos.

Típicamente, la cantidad de ácido docosahexaenoico en las composiciones de la invención está en el intervalo entre el 0,001% y el 4% en peso de la composición. Las cantidades más preferentes son del 0,01% al 5% en peso, tal como del 0,1% al 1% en peso.

Cuando el DHA es proporcionado por el aceite de pescado, la composición de la presente invención comprende, preferentemente, del 0,2 al 10% en peso de aceite de pescado, más preferentemente, del 0,4 al 4% en peso de aceite de pescado. Típicamente, el aceite comprende DHA y EPA. Preferentemente, se compone de al menos el 12% en peso (tal como al menos el 20% en peso) de EPA y DHA, más preferentemente, al menos el 30% en peso de EPA y DHA.

El ácido eicosapentaenoico (EPA) es uno de varios ácidos grasos ω-3 usados por el cuerpo. Se ha demostrado que un mayor consumo de EPA es beneficioso en la enfermedad coronaria, presión sanguínea alta y trastornos inflamatorios, tales como la artritis reumatoide.

El ácido eicosapentaenoico (EPA) y el ácido docosahexaenoico (DHA) provienen de peces de aguas frías, tales como el salmón salvaje (no de piscifactoria), caballa, sardinas, arenque y otros animales marinos del norte. Los peces pueden producir EPA y DHA a partir de los ácidos grasos ω-3 esenciales, ácido alfa-linolénico (LNA), pero obtienen la mayoría de su EPA y DHA a partir de algas marrones y rojas, que producen EPA y DHA a partir de carbohidratos (azúcar, almidón, celulosa, etc.).

Más recientemente, las algas marrones y rojas han comenzado a ser cultivadas comercialmente para la obtención de EPA y DHA. Estas representan del 10 al 14% de ω3 de cadena larga (en base al peso en seco) y pueden ser usadas como fuentes alimenticias de triglicéridos que contienen EPA y DHA.

Uno o más antioxidantes están presentes, preferentemente, en las composiciones de la invención, con el fin de prevenir o retrasar la degradación oxidativa natural del ácido graso poliinsaturado. Los ácidos grasos rancios no sólo tienen un sabor desagradable sino que incluso pueden tener efectos negativos para la salud (Kubow S., "Toxicity of dietary lipid peroxidation products", Trends in Food Sciences & Technology, Septiembre, 67-71 (1990)).

Los antioxidantes adecuados pueden ser seleccionados, aunque no exclusivamente, de la siguiente lista, bien individualmente o bien en combinación: TBHQ, ésteres de ascorbilo (por ejemplo, palmitato de ascorbilo), ácido ascórbico, tocoferoles, extracto de romero, extractos o concentrados de frutas, extracto de té negro o verde, galato de propilo, aceites esenciales o de oleorresinas, butilhidroxianisol (BHA), butilhidroxitolueno (BHT), ácido cítrico o ésteres, co enzima Q10, tocotrienoles, quelantes (por ejemplo, EDTA), portadores, polifenoles, compuestos fenólicos, flavonoides, eliminadores de oxígeno.

Los antioxidantes especialmente preferentes son las vitaminas C y E. Estos antioxidantes no son solamente eficaces, sino que también se ha demostrado que proporcionan beneficios para la piel, cuando son consumidos.

Debería añadirse una cantidad suficiente de antioxidante para prevenir que el ácido graso poliinsaturado se rancie durante una vida útil típica de 6 meses. Evidentemente, la cantidad de antioxidante dependerá del tipo y de la actividad del antioxidante usado. Sin embargo, preferentemente, el producto tiene una relación de peso de antioxidante con respecto a

ácido graso poliinsaturado de 1:10 a 1:100, en base a la actividad antioxidante de la vitamina C. Por ejemplo, si se usa un antioxidante con el doble de la actividad de la vitamina C, la relación de peso sería de 1:20 a 1:200.

Para estos propósitos, una actividad antioxidante es tal como se mide usando un ensayo apropiado (por ejemplo, capacidad antioxidante equivalente a Trolox).

Las composiciones de la invención pueden comprender un aromatizante, aunque la adición de un aromatizante puede ser innecesaria si el ácido salicílico o éster es proporcionado por una sustancia aromatizante, tal como un zumo de frutas. Los agentes aromatizantes adecuados pueden ser naturales o sintéticos. Los agentes aromatizantes pueden ser necesarios para hacer que el producto sea más sabroso para el consumo.

Las composiciones comprenden, preferentemente, un emulsionante, más preferentemente, un emulsionante fosfolípido, de calidad alimentaria. El emulsionante puede ser necesario para la estabilidad de una emulsión aceite-en-agua. Es preferente que el emulsionante fosfolípido sea lecitina. Los emulsionantes fosfolípidos son solubles en aceite, pero la lecitina puede ser añadida a cualquiera de las fases, antes de la emulsión. Preferentemente, se añade a la fase acuosa.

Preferentemente, el emulsionante está presente en la composición en una cantidad de al menos el 0,01% en peso. Preferentemente del 0,05 al 3% en peso, más preferentemente, del 0,1 al 1% en peso de la composición.

La composición de la invención puede comprender otros ácidos grasos, tales como ácido linoleico. El ácido linoleico puede estar presente como un componente de un aceite natural, tal como por ejemplo, un aceite vegetal, aceite de girasol.

Otro componente opcional de la composición es un extracto de una planta desintoxicante, tal como aceite de romero.

La composición puede comprender también carotenoides, tal como en una cantidad del 0,0005 al 0,1% en peso, por ejemplo, del 0,002 al 0,04% en peso. Los carotenoides, siendo solubles en aceite, estarían comprendidos, predominantemente, en el interior de la fase oleosa. Los carotenoides altamente preferentes son β-caroteno y licopeno. Estos carotenoides proporcionan una protección moderada contra el eritema inducido por rayos UV, y se cree que es debido a su funcionalidad antioxidante, incluyendo la eliminación de especies reactivas de oxígeno.

La composición puede comprender también isoflavonas de soja (incluyendo genisteína en forma glicosilada y/o no glicosilada), típicamente, en una cantidad del 0,0001% al 0,1% en peso.

La composición de la presente invención puede realizarse preparando una fase acuosa y una fase oleosa. En general, los ingredientes solubles en agua se colocan juntos en la fase acuosa y los ingredientes solubles en aceite en la fase oleosa. Si se usa un emulsionante, es preferente que sea añadido a la fase acuosa.

A continuación, la fase oleosa y la fase acuosa son mezcladas entre sí para formar una emulsión.

En un procedimiento preferente, el aceite se encuentra en un material portador, en polvo, para ayudar a la formación de una emulsión.

A continuación, la emulsión estable puede ser envasada en un contenedor sellado, tal como un contenedor de metal, recubierto de cartón (por ejemplo, Tetra Pak) o de plástico. A continuación, el contenedor es sellado, preferentemente, para no dejar ningún espacio de cabeza o un espacio de cabeza lleno de gas (por ejemplo, nitrógeno o dióxido de carbono). Esto ayuda adicionalmente a prevenir la oxidación.

Como alternativa, la emulsión puede ser congelada y envasada y comercializada como un producto de consumo congelado.

La composición de la invención puede tener un efecto anti-inflamatorio sobre la piel. Los beneficios de los efectos anti-inflamatorios sobre la piel pueden incluir uno o más de entre: efectos de anti-envejecimiento, menor sequedad; mayor firmeza, mayor elasticidad, reducción de líneas finas y arrugas, menos lunares, granos y manchas (incluyendo el acné), una piel más clara; una piel menos sensible y, generalmente, una piel más sana. La piel puede incluir la piel de todo el cuerpo, preferentemente, de la cara, cuello y/o manos. La piel puede incluir también la piel del cuero cabelludo, con beneficios para el cabello (incluyendo un menor envejecimiento) y el picor o la irritación del cuero cabelludo. De manera conveniente, el beneficio puede ser cosmético.

La composición es usada, preferentemente, para sus efectos de anti-envejecimiento y/o anti-arrugas. La piel del consumidor puede ser descrita como calmada y/o limpia y/o libre de imperfecciones.

La composición de la invención puede ser envasada junto con una composición para la aplicación tópica a la piel. Como tal, la composición puede ser un kit de partes que comprende la composición de la invención, envasada separada de una composición para la aplicación tópica a la piel. El kit de partes está adaptado para ser comercializado como un artículo individual y para ser usado por el consumidor para el consumo de la composición oral y la aplicación de la composición

tópica a la piel. Idealmente, el kit de partes contiene instrucciones para aplicar la composición tópica y consumir la composición oral como parte de un régimen de dosificación, que puede requerir, por ejemplo, que el usuario consuma la composición oral y aplique la composición tópica en momentos determinados del día.

En una realización adicional, el kit de partes puede comprender, de manera adicional o alternativa, una serie de bebidas, envasadas por separado, en el que el consumidor beberá, típicamente, una bebida al día. También, dentro de dicho un kit de partes, puede encontrarse una composición para su aplicación tópica a la piel, en el que la cantidad de composición tópica suministrada pretende permitir su uso por el consumidor durante el mismo número de días que las bebidas suministradas.

La bebida puede ser comercializada también en un envase individual, desde el que se pretende que el consumidor beba una cantidad medida al día.

La composición tópica puede ser proporcionada en cantidades que permitirán el uso continuado de la composición tópica durante más tiempo que el tiempo durante el cual se ha usado la bebida, de manera similar, puede proporcionarse más bebida de manera que pueda seguir siendo consumida durante más tiempo que el tiempo en el que se agota la composición tópica.

Además, el kit de partes puede comprender un producto envasado en el que diferentes suplementos están envasados juntos, opcionalmente, con instrucciones de uso, para conseguir los beneficios de la invención. Por ejemplo, el kit puede comprender cápsulas, comprimidos, píldoras y/o polvos, incluyendo, por separado o en combinación, ácido salicílico, un éster de alquilo C1 a C6 del mismo y una sal del mismo y un ácido graso poliinsaturado. Es posible que este kit incluya también una composición tópica.

Un kit de partes ofrecería, típicamente, un producto que podría ser usado desde aproximadamente 1 semana a aproximadamente 3 meses, frecuentemente, de aproximadamente 2 semanas a aproximadamente 2 meses, más preferentemente, durante aproximadamente 1 mes.

Cuando la invención proporciona una composición para su aplicación tópica, ésta comprende, preferentemente, uno o más agentes anti-acné activos.

Preferentemente, el agente anti-acné es seleccionado de entre antibacterianos, desescamadores, queratolíticos y reforzadores de retinoides.

Los agentes anti-acné están presentes, preferentemente, en las composiciones tópicas en una cantidad de aproximadamente el 0,1% a aproximadamente el 20% en peso, más preferentemente de aproximadamente el 0,1% a aproximadamente el 10% y, más preferentemente, de aproximadamente el 0,1% a aproximadamente el 5% en peso. Los agentes anti-acné pueden ser compuestos individuales o mezclas de dos o más agentes anti-acné.

Los ejemplos de agentes anti-acné incluyen ácido salicílico, queratolíticos, tales como azufre, ácido láctico, ácido glicólico, ácido pirúvico, urea, resorcinol, alquilresorcinoles, tales como 4-hexilresorcinol, y N-acetilcisteína; retinoides, tales como ácido retinoico y sus derivados (por ejemplo, cis y trans); antimicrobianos (incluyendo antibióticos y antibacterianos), antifúngicos, antiprotozoarios y antivirales, por ejemplo, peróxido de benzoílo, octopirox, eritromicina, tetraciclina, triclosán, ácido azelaico y sus derivados, fenoxi etanol y fenoxi propanol, acetato de etilo, clindamicina y meclociclina, triclosán, clorhexidina, tetraciclina, neomicina, clorhidrato de miconazol, paraclorometaxilenol, nistatina, tolnaftato, clotrimazol, etc.; sebostatos, tales como flavinoides; hidroxi ácidos; fármacos antipruríticos incluyendo, por ejemplo, sales de metdilizina y trimeprazina tópicamente aceptables; y sales biliares, tales como sulfato de escimnol y sus derivados, desoxicolato y colato. Las composiciones pueden comprender también ácido pantoténico o un derivado de ácido pantoténico, tal como se describe en el documento US 5.612.324, cuyos contenidos se incorporan a la presente memoria, por referencia.

Los componentes preferentes de la composición tópica son ácido linoleico y/o ácido salicílico (o un éster C1 a C6 del mismo). El ácido linoleico puede ser incluido en la composición como parte de un aceite natural, tal como aceite vegetal, por ejemplo, aceite de girasol.

También son útiles los fármacos anti-inflamatorios no esteroideos (NSAIDS). Los NSAIDS pueden ser seleccionados de entre las categorías siguientes: derivados de ácido propiónico, derivados de ácido acético, derivados de ácido fenámico; derivados de ácido bifenilcarboxílico, y oxicamos. Todos estos NSAIDS se describen completamente en la patente US No. 4.985.459, de Sunshine et al., expedida el 15 de Enero 1991, incorporada a la presente memoria, por referencia. Los más preferentes son los NSAIDS propiónicos que incluyen, pero no se limitan a, aspirina, paracetamol, ibuprofeno, naproxeno, benoxaprofeno, flurbiprofeno, fenoprofeno, fenbufeno, cetoprofeno, indoprofeno, pirprofeno, carprofeno, oxaprozina, pranoprofeno, miroprofeno, tioxaprofeno, suprofeno, alminoprofeno, ácido tiaprofénico, fluprofeno y ácido buclóxico. También son útiles los fármacos anti-inflamatorios esteroideos que incluyen hidrocortisona, etc.

Otros ejemplos de compuestos que son útiles como agentes anti-acné, bien solos o en combinación con los agentes anti-

acné indicados anteriormente, son los reforzadores de retinoides. Los reforzadores de retinoides son compuestos que imitan el efecto del ácido retinoico sobre la piel, mejorando la conversión de retinol o ésteres de retinol a ácido retinoico. Los reforzadores de retinoides pueden ser usados solos o como combinaciones de dos o más compuestos. Los reforzadores de retinoides se describen en el documento WO 02/02074, cuyos contenidos se incorporan a la presente memoria, por referencia. Los reforzadores de retinoides específicos incluyen, por ejemplo, ceramidas, fosfatidil colina, ácido linoleico, ácido 12-hidroxiesteárico y climbazol.

Los componentes opcionales de la composición tópica incluyen conservantes, antioxidantes, fragancias, arcillas, tensoactivos, materiales formadores de gel, siliconas, emolientes, humectantes y pigmentos. Estos materiales opcionales pueden ser usados solos o pueden usarse dos o más de cada tipo de material (por ejemplo, una composición puede incluir dos o más arcillas diferentes). Estos componentes opcionales pueden ser usados mezclados, por ejemplo, una composición puede contener un conservante, un perfume y una arcilla.

Los ejemplos específicos de componentes opcionales, algunos de los cuales se indican también más adelante, en la presente memoria, son alcoholes alquílicos que contienen de 12 a 24 átomos de carbono, ácidos alquil carboxílicos que contienen de 12 a 24 átomos de carbono, polivinilpirrolidona, polietilenglicol, aceite mineral, polisorbatos, tensoactivos no iónicos, sorbitol, metil celulosa, ésteres de propilenglicol, sales de zinc, dióxido de titanio y sus mezclas.

Los ejemplos no limitativos siguientes ilustran la invención y no limitan, en modo alguno, su alcance. En los ejemplos y a lo largo de la presente especificación, todos los porcentajes, partes y relaciones son en peso, a menos que se indique lo contrario.

Ejemplos

Ejemplo 1 - Efecto anti-inflamatorio sinérgico entre el ácido salicílico y DHA en células endoteliales del cordón umbilical humano (Huvec).

Esquema del enfoque experimental

Se ha desarrollado un modelo *in vitro* para investigar el impacto del estrés citoquínico sobre el estado inflamatorio de las células endoteliales.

a. Las células son cultivadas en placas de 6 pocillos ($9{,}5^2$).

b. Las células son tratadas con 10 ng/ml de factor de necrosis tumoral alfa (TNF alfa).

c. El sobrenadante del cultivo tisular y los sedimentos celulares fueron recogidos a las 24 horas (t24) después del tratamiento con TNF alfa.

d. Todos los sobrenadantes del cultivo tisular fueron ensayados para lactato deshidrogenasa (LDH), como una medida de la citotoxicidad.

e. Todas las células fueron contadas (Beckman Coulter Counter) y los sedimentos y los lisados de células fueron ensayados para la expresión de molécula de adhesión intra celular 1 (Intra Cellular Adhesion Molecule 1, ICAM-1) y prostaglandina E2 (PGE2).

Materiales y procedimientos

Cultivo de células endoteliales

Las células Huvec (células endoteliales del cordón umbilical humano, TCS Biologicals) fueron cultivadas y pasadas en EGM-2 (medio de crecimiento endotelial, Biowhittaker), suplementado con heparina, VEGF (factor de crecimiento vascular endotelial), sulfato de gentamicina, ácido ascórbico, HEGF (factor humano de crecimiento del endotelio), hidrocortisona, HFGF-B (factor humano de crecimiento de fibroblastos B), R3-IGF-1 (factor de crecimiento R largo similar a insulina 1) y FBS (suero fetal bovino).

Las células fueron colocadas, de manera rutinaria, en placas de cultivo tisular de 6 pocillos, a una densidad de sembrado de aproximadamente 5.000 células/cm^2 en 2 ml de medio completo/pocillo, 24 horas antes de iniciar el experimento, y fueron incubadas a 37ºC en 5% de CO_2.

Adición de las soluciones de ensayo

Las soluciones de ensayo fueron preparadas en EGM-2, que contenía todos los suplementos, excepto hidrocortisona. Las células endoteliales células fueron tratadas durante 24 horas con 10 ng/ml de TNF alfa.

Recogida de muestras y número de células

Se anotó cualquier cambio en la morfología celular antes de recoger las células. Tanto el sobrenadante del cultivo tisular como las células endoteliales fueron recogidas después de la adición de TNF-alfa recombinante (t24). Todos los sobrenadantes del cultivo tisular fueron almacenados a -20ºC.

Se añadió 1 ml de solución tripsina/EDTA (Invitrogen 25300-054) a cada pocillo, y la placa fue incubada a 37ºC hasta que las células se separaron. Se añadieron 50 µl de esta suspensión celular a 9,95 ml de Isoton II (Beckman Coulter) en una cubeta y 0,5 ml de esta suspensión fueron sometidos, dos veces, a un recuento en un dispositivo Coulter particle Counter Z1, con una abertura de 140 µm.

Los 950 µl restantes de la suspensión celular original fueron centrifugados a 13.000 rpm en una microcentrífuga durante 10 minutos. El sobrenadante fue descartado y el sedimento celular fue lavado con 500 µl de PBS de Dulbecco y fue centrifugado tal como se ha indicado anteriormente. El sobrenadante fue descartado como anteriormente y el sedimento celular fue almacenado -20ºC antes de la lisis celular. El número de células por sedimento fue estimado a partir de los datos del dispositivo Coulter Counter.

Ensayo de citotoxicidad (Promega)

Todo el sobrenadante del cultivo tisular fue examinado para citotoxicidad usando el ensayo Promega CytoTox 96 de citotoxicidad, no radiactivo. Este ensayo mide, cuantitativamente, la lactato deshidrogenasa (LDH) liberada después de la lisis celular y es una buena indicación de la viabilidad celular. Se añadieron 50 µl de sobrenadante de cultivo tisular o medio de control a pocillos duplicados de una placa de microtitulación de 96 pocillos. Se añadieron 50 µl de reactivo CytoTox y se mezcló bien. La placa fue incubada en la oscuridad, a temperatura ambiente, durante 30 minutos. Después de este tiempo, se añadieron 50 µl de solución de parada a cada pocillo y la absorbancia de la placa fue leída a 492 nm. Todas las muestras de ensayo que proporcionaron un valor de absorbancia superior al doble del medio de control fueron consideradas citotóxicas. No se han incluido resultados de las muestras que mostraron cualquier signo de citotoxicidad.

Preparación de lisado celular

Todos los sedimentos celulares fueron lisados en hielo durante 30 minutos en 1 ml de tampón de lisis celular por cada 2,5 x 10^6 células. El tampón de lisis contenía 1% de NP-40, el 0,1% de desoxicolato sódico, el 0,1% de SDS, 6 mM cloruro sódico y 0,05 M de Tris a pH 7,6. Se añadió un cóctel de inhibidores de proteasa (1000X, Sigma P8340) antes de su uso a un nivel de 10 µl por ml de tampón de lisis. Los sedimentos celulares, parcialmente lisados, fueron homogeneizados por completo con un triturador de sedimentos y los restos celulares no deseados fueron eliminados mediante centrifugación durante 20 minutos, a 20.000 g, a 4ºC. El lisado celular clarificado fue congelado a -80ºC hasta que se necesitó.

Ensayo de proteína total (Pierce)

La concentración de proteína total de cada lisado celular fue medida usando el kit de ensayo de proteína Pierce BCA. Un conjunto de ocho soluciones estándar, en el intervalo de 0 a 1.200 µg/ml de proteína fue preparado a partir de la solución de almacén BSA, de 2 mg/ml, suministrada. Un lisado celular o estándar de 10 µl fue añadido a pocillos duplicados de una placa de microtitulación de 96 pocillos, de fondo plano. La solución de reactivo fue preparada según las instrucciones del kit de 50 partes de reactivo A y 1 parte de reactivo B. Se añadieron 200 µl de reactivo final a cada pocillo de la placa de microtitulación. La placa fue mezclada, cubierta e incubada a 37ºC durante 30 minutos, y la absorbancia fue leída a 562 nm. Una curva estándar de proteína fue construida y usada para determinar la concentración de proteína de cada lisado celular.

ICAM-1 ELISA (R&D Systems)

La proteína ICAM-1 en cada lisado celular fue estimada usando el kit Human sICAM-1 DuoSet ELISA (R&D Systems DY720), según las instrucciones del fabricante.

El anticuerpo de captura fue diluido a una concentración final de 4 µg/ml en PBS y se usaron 100 µl para cubrir cada pocillo de una placa de microtitulación de 96 pocillos, durante la noche, a temperatura ambiente. A continuación, la placa fue lavada tres veces con tampón de lavado (0,05% de Tween 20 en PBS). Cada pocillo recibió 300 µl de tampón de bloqueo (1% de BSA, 5% de sacarosa y 0,05% de azida sódica en PBS), y la placa fue incubada a temperatura ambiente durante 1 hora, antes de ser lavada como anteriormente. A continuación, cada lisado celular fue diluido 1/200 en diluyente reactivo (1% de BSA en PBS) y se añadieron 100 µl a pocillos duplicados de la placa recubierta con anticuerpo. Se prepararon ocho estándares ICAM-1 en diluyente reactivo, a concentraciones en el intervalo de 0 a 1.000 pg/ml, y se añadieron estándares duplicados de 100 µl a los pocillos apropiados en la placa. Se usó, de manera rutinaria, un conjunto de estándares separado para cada plato. La placa fue incubada a temperatura ambiente, durante 2 horas, antes de ser lavada de nuevo. Se añadieron 100 µl de anticuerpo de detección, diluidos a una concentración final de 100 ng/ml, a cada pocillo y la placa fue incubada a temperatura ambiente, durante 2 horas. La placa fue lavada como anteriormente. Cada

pocillo recibió 100 µl de conjugado estreptavidina-HRP diluido 1/200 en diluyente reactivo y la placa fue incubada a temperatura ambiente, en la oscuridad, durante 20 minutos. La placa fue lavada por última vez y se añadieron 100 µl de solución de sustrato (mezcla 1:1 de reactivo A de color y un reactivo B de color, R&D Systems DY999) a cada pocillo. Después de 20 minutos de incubación, a temperatura ambiente, en la oscuridad, el desarrollo de color fue detenido mediante la adición de 50 µl de 2N ácido sulfúrico. La absorbancia de las placas fue medida a 450 nm, con la longitud de onda de corrección establecida a 570 nm.

Se trazó una curva estándar de la absorbancia media con respecto a la concentración de ICAM-1 y se calculó la línea de mejor ajuste mediante un análisis de regresión. La concentración desconocida de ICAM-1 en las muestras fue calculada a partir de esto, teniendo en cuenta el factor de dilución de lisado.

Para normalizar las diferencias en el número de células y la concentración total de proteína, el resultado final fue expresado como ng ICAM-1 por mg de proteína total.

ELISA de alta sensibilidad para prostaglandina E2 (R&D Systems)

La concentración de proteína PGE2 de cada lisado de cultivo tisular fue ensayada usando el ensayo PGE2 DE2100 Humano (R&D Systems) según las instrucciones del fabricante.

Se prepararon ocho estándares PGE2 en diluyente calibrador, a concentraciones en el intervalo de 0 a 1.000 pg/ml. Se añadieron 150 µl de diluyente de ensayo y 50 µl de lisado de cultivo tisular o estándar a pocillos duplicados. Se añadieron 50 µl de solución de anticuerpo PGE2 HS a cada pocillo y fueron incubados durante 18-24 horas, a 2-8ºC. A continuación, la placa fue lavada cuatro veces con tampón de lavado. Se añadieron 200 µl de sustrato pNPP a cada pocillo y la placa fue incubada a temperatura ambiente, durante 1 hora, a 37ºC. A continuación, se añadieron 50 µl de solución de parada a cada pocillo. La densidad óptica de cada pocillo fue determinada usando un lector de microplacas, ajustado a 405 nm, con corrección de longitud de onda establecida entre 570 nM y 590 nM.

Se trazó una curva estándar del RLU medio con respecto a la concentración de PGE2 y la línea de mejor ajuste mediante un análisis de regresión. La concentración desconocida de proteína PGE2 en todas las muestras fue estimada a partir de estos datos.

El ácido salicílico (SA), ácido acetil salicílico (ASA) y el DHA fueron adquiridos de Sigma Aldrich.

La Figura 1 muestra la inhibición de respuesta a dosis de ICAM-1 con el DHA.

La Figura 2 muestra la sinergia entre el ácido salicílico y un aceite de pescado (DHA) en células endoteliales del cordón umbilical humano, en términos de cambios en PGE2.

Ejemplo 2 - Composición de la invención

A continuación, se muestra un ejemplo de una composición de la invención. La composición puede ser preparada combinando los ingredientes y homogeneizando la mezcla.

Ingrediente	**% en peso**
DHA	0,40
Zumo de arándano rojo (concentrado)	50
Vitamina C	0,17
Vitamina E	0,25
Licopeno	0,005
Beta-caroteno	0,002
Isoflavonas de soja	0,03

(Cont.)

Ácido cítrico	0,18
Edulcorante, espesante, emulsionante	q.v.

Agua	Hasta 100%

Ejemplo 3 - Composición de dos partes de la invención

Una composición, tal como la descrita en el Ejemplo 2, es envasada junto con una composición para el tratamiento tópico de la piel, que puede tener la siguiente composición.

Ingredientes	**% en peso**
Agua desionizada	qs 100
Etanol (Alcohol SD 40B)	35,0
Ácido salicílico	2,0
n-octil parabeno	3,0
Glicerol	2,0
EDTA disodio	0,005
Trietanolamina, 99%	0-1,0

Ejemplo 4 - Producto envasado de la Invención

El siguiente es un ejemplo alternativo de una composición de la invención, que puede ser comercializada como un producto envasado que incluye instrucciones de dosificación y uso.

- El tratamiento tópico del Ejemplo 3, destinado a una aplicación dos veces al día;
- Cápsulas de aceite de pescado, que contiene cada una 1 gramo de aceite de pescado, como fuente de DHA y EPA, en una dosis recomendada de 4 cápsulas por día;
- Polvo de arándano rojo como fuente de ácido salicílico, en una dosis recomendada de 6 gramos al día;
- Cápsulas de isoflavonas de soja, a una dosis recomendada de 100 mg al día.

REIVINDICACIONES

1. Una composición que está adaptada para el consumo oral, que comprende ácido salicílico, un éster de alquilo C1 a C6 del mismo o una sal del mismo, y un ácido graso poliinsaturado, en la que el ácido graso poliinsaturado es ácido docosahexaenoico (DHA).

2. Composición según la reivindicación 1, que está en forma de una emulsión, suspensión o dispersión acuosa, sustancialmente homogénea.

3. Composición según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en la que la sal de ácido salicílico, su éster o sal y el ácido graso poliinsaturado están contenidos en la composición en una cantidad suficiente para exhibir un efecto anti-inflamatorio sobre la piel.

4. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que la sal de ácido salicílico, su éster o sal, tienen un grupo hidroxi fenólico libre.

5. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el ácido salicílico o su éster está presente como un componente de un producto natural o un extracto o concentrado del mismo.

6. Composición según la reivindicación 5, en la que el producto natural es un material vegetal.

7. Composición según la reivindicación 5 o la reivindicación 6, en la que el producto natural es seleccionado de entre frutas, preferentemente bayas, y especias.

8. Composición según la reivindicación 7, en la que el producto natural es zumo de arándano rojo.

9. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el DHA está presente en forma de un aceite de pescado o tiene su origen en una fuente microbiana.

10. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, estando la composición en forma de un producto o suplemento alimenticio.

11. Composición según una cualquiera las reivindicaciones 1 a 9, estando la composición en forma de un comprimido, píldora, cápsula o polvo.

12. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende uno o más componentes adicionales seleccionados de entre antioxidantes, agentes aromatizantes, conservantes y estabilizantes.

13. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que está envasada como una bebida o una barra, de manera conveniente, una bebida.

14. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que está envasada junto con una composición para su aplicación tópica a la piel.

15. Composición según la reivindicación 14, en la que la composición para la aplicación tópica comprende uno o más agentes activos anti-acné.

16. Composición según la reivindicación 2, para su uso en la obtención de un efecto anti-inflamatorio en la piel, en la que el ácido graso poliinsaturado es ácido docosahexaenoico (DHA).

17. Composición según la reivindicación 16, en la que el beneficio anti-inflamatorio es seleccionado de entre efectos antienvejecimiento; menor sequedad; mayor firmeza; mayor elasticidad; menos línea finas y arrugas; menos puntos, granos y manchas (incluyendo acné); piel más clara; piel menos sensible; y, generalmente, piel más sana.

Fig.1.

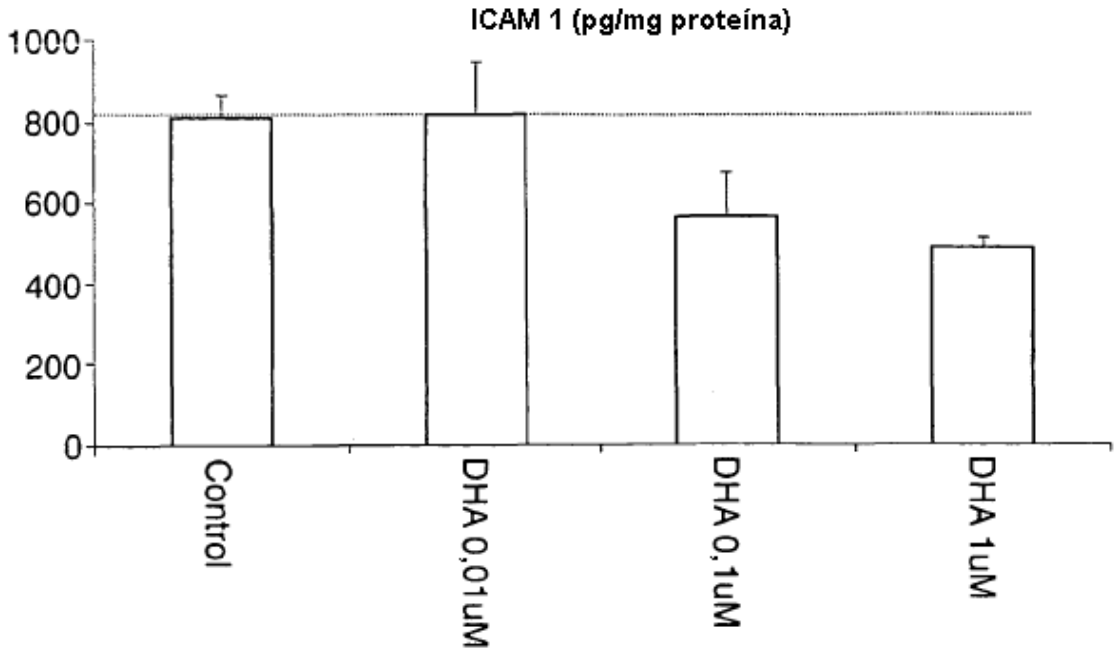
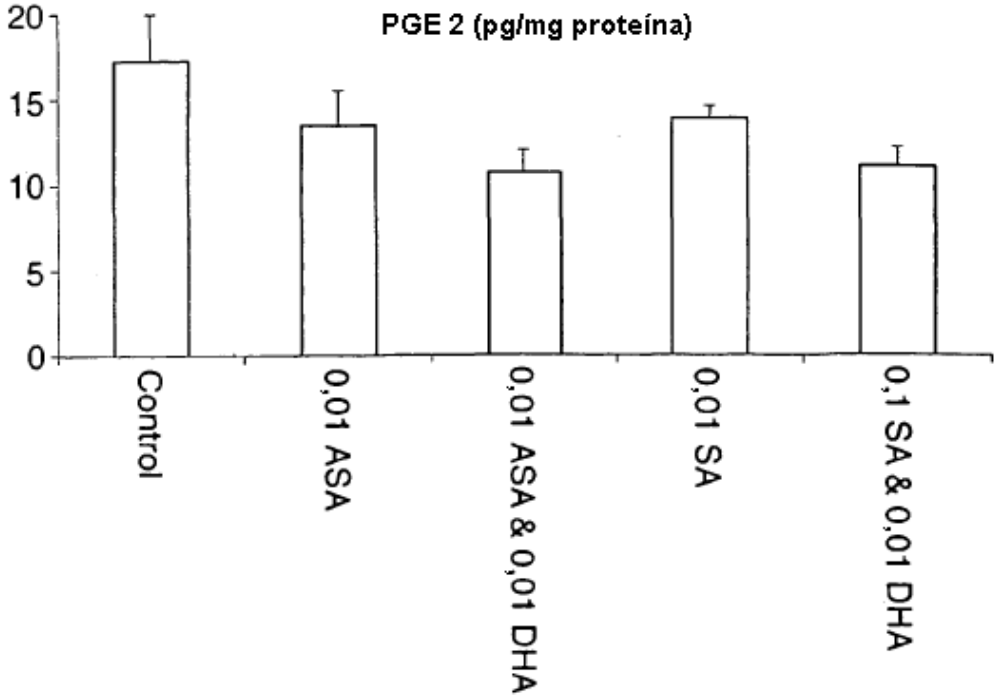

ICAM 1 (pg/mg proteína)
1000
800
600
400
200
0
Control
DHA 0,01uM
DHA 0,1uM
DHA 1uM

Fig.2.


PGE 2 (pg/mg proteína)
20
15
10
5
0
Control
0,01 ASA
0,01 ASA & 0,01 DHA
0,01 SA
0,1 SA & 0,01 DHA