(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 646 335**

(21) Número de solicitud: 201630796

(51) Int. CI.:

A61K 36/63 (2006.01)
A61K 36/185 (2006.01)
A61K 31/355 (2006.01)
A61K 33/04 (2006.01)
A61K 39/085 (2006.01)
A61P 19/02 (2006.01)

(12) SOLICITUD DE PATENTE A1

(22) Fecha de presentación:

10.06.2016

(43) Fecha de publicación de la solicitud:

13.12.2017

(71) Solicitantes:

RUBIO GARCÍA, Nicolás (100.0%)
C/ Porvera 29 (Clínica los Angeles Nocturnos)
11403 JEREZ DE LA FRONTERA (Cádiz) ES

(72) Inventor/es:

RUBIO GARCÍA, Nicolás

(74) Agente/Representante:

HIDALGO CASTRO, Angel Luis

(54) Título: **ACEITE OZONIZADO CON ANTIOXIDANTES**

(57) Resumen:
Aceite ozonizado con antioxidantes que consiste en los siguientes componentes: aceite de origen vegetal ozonizado, preferentemente aceite de oliva, estafilococo Aureus atenuado, tocoferol alfa y selenio, y su composición es: aceite de origen vegetal ozonizado 100 ml, estafilococo Aureus 5 a 10 gotas, tocoferol alfa 400 mg y selenio 50 a 100 ng/2 ml. El estafilococo aureus atenuado se obtiene inactivando dichas bacterias por calor en tres ciclos de 105ºC durante 18 minutos.

ES 2 646 335 A1

DESCRIPCIÓN

Aceite ozonizado con antioxidantes

Objeto de la invención

Es objeto de la presente invención un aceite de origen vegetal ozonizado al cual se añaden una serie de sustancias antioxidantes adecuado para el tratamiento tópico de la artrosis.

Antecedentes de la invención

Según un estudio de la sociedad española del dolor, en noviembre de 2005, el 80% de la población española sufrirá dolor lumbar o cervical al menos una vez en la vida. En la práctica médica esta conclusión es aceptada, y se tiene miedo porque cada vez el dolor y la artrosis, que es su causa fundamental, aparece en personas cada vez más jóvenes y el deporte agrava más el problema, por el sobreesfuerzo que suponen para las articulaciones. Los medios de que se dispone para su tratamiento son escasos y poco eficaces. La artrosis es la patología reumática más frecuente, y no puede ser definida como una enfermedad, sino como un grupo de patologías que afectan a la articulación y que se caracterizan por la presencia de cambios estructurales, degenerativos, regenerativos y de reparación de todos los tejidos que forman la articulación. Hasta hace poco el factor inflamatorio no se consideraba de importancia, pero en la actualidad se considera este de primera magnitud. Se puede definir de muchas formas, dependiendo de diversos puntos de vista: clínico, inmunológico, bioquímico

En general y los más recientes trabajos epidemiológicos sobre longevidad así lo demuestran, la media estadística de vida en la población occidental en la actualidad, es de unos 80 años, aunque estimamos que a esta cifra se ha llegado hace ya algún tiempo. Todo ello comparado con los primeros estudios publicados sobre el citado tema, sobre 1915, en que dicha cifra está en torno a los 38-40 años, cifra esta que es idéntica en la actualidad con la existente en el África subsahariana. Se debe este cambio sustancial a, en general, una serie de acontecimientos, como ser la mejor alimentación, vivienda, sanidad, horario laboral,

y un largo etcétera, todo ello ha significado, que en menos de un siglo y no en todas las sociedades, se ha duplicado la media de vida. Todo ello es enormemente positivo, pero se está pagando por ello un peaje muy importante, como y según los estudios estadísticos realizados por la Sociedad Española de Medicina General (SEMERGEN), en el entorno de los 45-50 años, las personas padecen unos tres procesos de tipo crónico, entre otros oftalmológicos, hipertensión, rinitis, artrosis, y que lógicamente se incrementan con la edad. Muchos personas piensan que esto es coincidencia, pero si se considera que el organismo humano no está programado para vivir una media de 80 años, pero sí lo está para los citados 45-50, y buen ejemplo de ello es lo que sucede en la actualidad en muchos países en vías de desarrollo, y todo desde hace un millón de años, que es aproximadamente el tiempo de aparición del hombre en la tierra.

A partir de una determinada edad comienza a declinar el sistema de respuesta inmune. La glándula timo, que es el astro más brillante de toda la constelación inmunológica, se comienza a atrofiar, quedando todo el sistema defensivo en manos del sistema ganglionar de suplencia, y que decir del sistema defensivo intracelular, como es la biología molecular. Los radicales libres, que son el resultado de la actividad del sistema mitocondrial que continua su función, pero que es el sistema neutralizante el que deja de ser efectivo, dicho sistema neutralizante son los antioxidantes enzimáticos o intracelulares.

En términos generales y tal y como dice *Richard Epsein* de la universidad de Siracusa: tener una buena salud depende de disponer de las moléculas correctas en el lugar preciso y en el momento oportuno. Por consiguiente la enfermedad se origina por la aparición de moléculas anormales en células alteradas a destiempo. Las bases biológicas de la salud y la enfermedad se han transformado inevitablemente en moleculares para entender las enfermedades y tratarlas etiológicamente, por todo ello se puede definir la osteoartrosis como la consecuencia clínica de una situación de estrés oxidativo alterado a nivel del condrocito.

Prácticamente es unánime, que el condrocito es la célula más importante que encontramos en el cartílago articular, tiene una escasa actividad mitótica y una capacidad de síntesis relativamente baja y es responsable de mantener la matriz cartilaginosa en un estado de equilibrio de bajo “turnover”. Desde el comienzo de la actividad articular, el condrocito se ve sometido a constantes estímulos de tipo mecánico y ello hace que aparezca una secuencia de acontecimientos de tipo inmunológicos, con la aparición de proteínas solubles, llamadas

citoquinas, que tienen unas características especificas y sin conocer las mismas no es posible tener conocimientos de los eventos que se suceden. La acción paracrina: que pone de manifiesto que tiene una vida muy corta, por lo que tiene tendencia a actuar sobre células que se encuentran en el área adyacente al lugar donde son sintetizadas. Otra característica muy importante es el pleiotropismo, que consiste en la capacidad de activar simultáneamente múltiples receptores celulares. Finalmente el efecto redundancia o la facultad que tiene de ejercer la misma acción sobre diversos receptores las citoquinas que se producen son: il-1, il-17 y tnf- alfa, y que son los responsables de la activación de otras células.

En general la artrosis se caracteriza por la degeneración del cartílago articular y ya se comienza a conocer diversos factores etiológicos, aunque independientemente de la causa y por tanto el factor desencadenante, a continuación se secuencian una serie de acontecimientos a nivel bioquímico, molecular e inmunológico a nivel intracelular. La acción de estímulos mecánicos, biológicos u otros factores de riesgo sobre los condrocitos del cartílago son los responsables de la pérdida de equilibrio entre la síntesis y la degradación de la matriz. Esta se caracteriza por un aumento en la síntesis y liberación de mediadores pro-inflamatorios: citocinas, óxido nítrico, prostaglandinas, metaloproteasas, que claramente favorecen el desarrollo de la artrosis, ya que son los responsables de la ruptura del estado de homeostasis entre anabolismo y catabolismo.

En una articulación normal existe un equilibrio entre los procesos de degradación y de reparación de la matriz extracelular del cartílago, y esto se lleva a cabo en el condrocito por medio de dos procesos, el anabólico y el catabólico, y ambos se manifiestan por medio de citocinas, que activan los receptores específicos de las membranas celulares. Estas están formadas por proteínas especificas que son capaces de transformar un mensaje extracelular en un mensaje intracelular, activándose el antiguamente llamado 2º mensajero, término que en la actualidad se denomina transferencia de electrones por vía univalente de reducción del oxigeno, formándose especies activas incompletamente reducidas por adición secuencial de electrones de uno en uno, en el siguiente orden: radical superóxido, peróxido de hidrógeno y radical hidroxilo, los tres son radicales libres que en la actualidad se sabe que son los responsables del estrés oxidativo en los sistemas biológicos. Un radical libre es un átomo o una molécula que posee un electrón desapareado en su orbital más periférico o una molécula o fragmento de molécula que contiene uno o más electrones desapareados en su orbital externo, tienen una vida media del orden de milisegundos debido a su gran

reactividad. Estas moléculas o átomos tremendamente reactivos se encuentran implicados en el inicio y desarrollo de diversas enfermedades. En el medio biológico, los radicales libres son compuestos oxigenados y se les llama especies reactivas de oxigeno (ero), que tal y como hemos dicho son los responsables del daño oxidativo a macromoléculas biológicas como al ADN, lípidos, carbohidratos y proteínas. La teoría de la toxicidad del oxigeno por radicales libres afirma: que toda oxidación, o reducción, solo puede producirse en pasos de oxidaciones, o reducciones, de carácter univalente. Asimismo existen radicales libres nitrogenados o especies de nitrógeno reactivas (ern), cuya importancia ha crecido considerablemente en los últimos tiempos.

La vía univalente de reducción del oxígeno da lugar a tres formas “incompletamente reducidas”, entre este y el agua, el radical superóxido, el peróxido de hidrógeno, que no es un radical, pero puede generarlos, y el radical hidroxilo.

El radical superóxido o anión superóxido (O_2), contrariamente a puntos de vistas anteriores, carece de reactividad suficiente para atacar directamente a las macromoléculas, pero es potencialmente tóxico, ya que puede iniciar reacciones que den lugar a otros intermediarios a su muy reactivos. Sin embargo en presencia de trazas de catalizadores metálicos como el hierro y el cobre, la combinación del O_2 y el H_2O_2, en la reacción de Fenton o Haber-Weiss, da lugar a OH.

El peróxido de hidrógeno es una especie o estado de reducción de dos electrones del oxígeno, es una especie con gran capacidad de generar daño oxidativo a pesar de no ser un radical libre y se convierte en agua por acción de la catalasa, un proceso que determina su vida media. El peróxido de hidrógeno está implicado en la regulación de la transducción de la señal de expresión de genes a través NF_kB y AP-1, ambos son factores de transcripción capaces de inducir genes tales como el de la interleukina-2 (IL-2), el TNF o factor de necrosis tumoral.

EL radical hidroxilo es un estado de reducción de tres electrones de la molécula de oxígeno, el OH es considerado hoy el principal iniciador del ataque a todo tipo de macromoléculas, aunque existen otros iniciadores propuestos. Esta sustancia sin carga neta es considerada como una de las especies más reactivas presentes en el organismo. Su electrón desapareado puede reaccionar inespecíficamente con casi cualquier tipo de molécula en 2-3 diámetros moleculares desde su lugar de formación. Es la especie más reactiva, con una

vida media estimada alrededor de 10^{-9} segundos, la alta reactividad del OH impide su difusión a largas distancias a través de la célula, papel que le correspondería al H_2O_2, este último seria por tanto, también responsable de la propagación del daño oxidativo entre fracciones subcelulares, puede generarse en vivo como consecuencia de radiaciones de alta energía, que puede provocar la rotura hemolítica del agua corporal. La luz ultravioleta no tiene suficiente energía como para escindir una molécula de agua, pero puede dividir el agua oxigenada en dos moléculas de radical hidroxilo. También y a partir del peróxido de hidrógeno y del radical superóxido, puede formarse el radical hidroxilo, es la llamada reacción de Fenton, en la que ambas son catalizadas con la presencia de trazas de elementos como el hierro y cobre.

Óxido nítrico: el óxido nítrico ha cobrado gran relevancia en los últimos años por la importante función fisiológica que desempeña, además de ser considerado un intermediario tóxico importante por su condición de radical libre. Es un gas liposoluble e hidrosoluble cuya vida media es relativamente larga, 3-5 segundos. Su formación tiene lugar por una reacción enzimática en la que la enzima óxido nítrico sintasa y cataliza la conversión de L-arginina a L-citrulina, dando como subproducto NO, en numerosos tipos celulares. El óxido nítrico juega un papel fundamental en numerosos procesos fisiológicos, actúa como regulador del flujo sanguíneo local, inhibidor de la agregación plaquetaria y productor de macrófagos activados, contribuyendo a la defensa inmunitaria, también actúa como neurotransmisor, siendo el cerebro el órgano con mayor actividad óxido nítrico sintasa.

En los tejidos sanos, la fuente principal de radicales libres son las mitocondrias, esto se debe a que estos orgánulos son responsables de más del 90% del consumo de oxígeno celular y a que los radicales libres en los sistemas biológicos proceden siempre, en último término, del metabolismo del oxígeno por la vía univalente. Esto genera una serie de consecuencias, y es que entre las posibles consecuencias de una generación acentuada de radicales libres en el sistema mitocondrial están enfermedades como el parkinson, el envejecimiento, la artrosis, cáncer. Cuantitativamente, la segunda fuente de radicales libres son los fagocitos del sistema inmune al encontrarse con un agente infeccioso, las células polimorfonucleares y los macrófagos, que experimentan un aumento muy acusado de su consumo de oxígeno, llamado “estallido respiratorio”. Dicho consumo ocurre principalmente en las membranas plasmáticas donde un complejo enzimático, la NADPH oxidasa, se activa y produce radicales de oxígeno a partir de oxígeno basal y electrones libres derivados de la vía de las pentosas. Estos radicales libres contribuyen de forma acusada a la destrucción o

inactivación del agente infeccioso de modo directo, actuando sobre el ADN del germen invasor, con lo que evitamos su replicación y por la tanto que se extienda la infección.

La presencia de radicales libres procedentes de oxigeno, a nivel intracelular, tal y como se ha mencionado, genera por su avidez de un electrón, un ataque a macromoléculas, en tres parcelas: a nivel de lípidos, proteínas o ADN.

El primero de ellos es llamado peroxidación lipidica, que tiene tres fases perfectamente definidas: iniciación, mantenimiento y terminación, que es el caso más conocido y quizás más importante desde el punto de vista de la toxicidad aguda. La iniciación consiste en la extracción de un electrón de un carbono contiguo a un doble enlace, por parte de un iniciador como el OH. De entre todas las macromoléculas presente en los tejidos animales, los ácidos grasos poliinsaturados, son los más sensibles al ataque por radicales libres debido a la posesión de dobles enlaces, se forma así un radical alquil (L) que se convierte en peroxil (LOO), por adicción de oxigeno, que puede dar lugar a la propagación de la peroxidación, al generar otro radical alquil en el acido graso contiguo en la membrana. La propagación explica el carácter de reacción en cadena de la peroxidación lipídica, mediante la cual una sola iniciación, puede dañar un gran número de moléculas. La reacción se termina por la reacción de radicales contiguos, dando lugar a puentes cruzados (L-L) o mediante la fragmentación del acido graso en gran número de productos como el malondialdehido, que es el marcador más ampliamente utilizado. Parte de las investigaciones más recientes, está enfocadas a aclarar la peroxidación en sistemas agregados como las LDL. En estos modelos se sabe que tanto el tamaño de partícula, como la presencia de tocoferoles puede tener una importancia capital para la cicética de la autooxidación.

Daño oxidativo a proteínas: aunque se ha dedicado muchas mas atención a la peroxidación lipídica, en la actualidad se sabe que también se producen ataques similares a proteínas o ácidos nucleicos. Los productos de estas oxidaciones se acumulan en proporciones menores, lo que ha dado lugar a que hayan pasado desapercibidos durante largo tiempo, sin embargo todos estos procesos son de gran importancia por el carácter cualitativo del daño o por la dificultad de reparación del mismo. Las proteínas pueden ser atacadas, incluso a nivel de estructura primaria, y se ha demostrado que la oxidación en residuos de aminoácidos discretos sirve de marcador para sistemas proteolíticos no dependientes de ATP, para los que se ha propuesto nombres como el de macroxiproteinasa, que habría sido especialmente diseñados en la evolución para eliminar proteínas oxidadas.

Se ha llegado a la conclusión de que el H_2O_2 y las formas reducidas de hierro y cobre interaccionan, en los sitios de unión de estos metales a las proteínas, produciendo radicales libres que oxidan inmediatamente a los residuos de aminoácidos vecinos. Este proceso se considera pues específico del sitio de unión del metal, por lo que puede considerarse el centro activo. Entre los aminoácidos sensibles al daño oxidativo en las proteínas, se encuentran la histidina, la prolina, la arginina, la lisina y la cisteína y como consecuencia se forman los grupos carbonilos o se producen conversiones de unos aminoácidos en otros, como ocurre con la transformación de histidina en asparragina. Los grupos carbonilos aparecen en varios sistemas de oxidación in vitro, como los relacionados con el citocromo p-450. El contenido en carbonilos aumenta durante el envejecimiento en roedores y humanos. La medida del daño oxidativo a proteínas en muestras biológicas se suele realizar mediante la valoración de grupos carbonilos por medio de barridos espectrofotométricos o mediante isótopos, estas técnicas son extremadamente sensibles, pero no están libres de interferencias.

Daño oxidativo al ADN: los radicales libres reaccionan con los componentes del ADN mediante adición o abstracción, y el número de productos procedentes del ataque al ADN supera la veintena. La baja sensibilidad de este tipo de detección ha dado lugar recientemente a la valoración de un gran número de productos por cromatografía de gases, espectrometría de masas o de la *8-hidroxideoguanosina (8-ohdg).*

Los radicales libres generados extracelularmente deben cruzar la membrana plasmática antes de reaccionar con otros componentes celulares y por tanto pueden iniciar reacciones tóxicas en la misma. Los ácidos grasos insaturados presentes en la membrana y las proteínas transmembrana que tienen aminoácidos oxidables son susceptibles de ser alterados por los radicales libres. Estas reacciones alteran las propiedades de las membranas de tal modo que cambien su fluidez, aumentan la permeabilidad de las mismas, disminuyen el potencial de las mismas, hacen perder las secreciones secretoras e inhiben los procesos metabólicos celulares, y todo ello provocado por la peroxidacion lipídica, o a la oxidación de importantes proteínas estructurales.

La enzima NADPH- oxidasa presente en la membrana plasmática de las células fagociticas, en una importante fuente biológica de producción de radicales libres, debido a la activación de los polimorfonucleares y macrófagos que consumen gran cantidad de oxígeno, el cual

será transformado en radical superoxido. Estos radicales libres dependientes de oxigeno, pueden dañar a las propias células que los originan y a células próximas a los fagocitos estimulados. También se ha visto que la NADPH- oxidasa es una importante fuente de radicales libres en células musculares lisas arteriales y endotelio.

Dada la importancia del daño que el estrés oxidativo puede producir en las células y en el organismo, en los últimos años se ha intentado encontrar, índices que nos permitan medirlo. Entre los indicadores propuestos, los más relevantes son el cociente gssg/gsh, como indicador del daño oxidativo en el citosol, el malondialdhido y el hidroxinonenal, como indicadores del daño a los lípidos, 8-hidroxi-2-desoxiguanosina, que es un índice de daño oxidativo en el ADN, el grupo carbonilo y 2-oxohistidina, que es el marcador que más nos interesa en el proyecto.

Antioxidantes: el organismo posee una serie de sistemas de naturaleza enzimática y no enzimática, diseñados para protegerse de la acción de los radicales libres por él generados, se denominan antioxidantes. Se puede definir a los antioxidantes como cualquier sustancia que, cuando está presente en bajas concentraciones comparado con el sustrato oxidable, disminuye significativamente o inhibe la oxidación de este sustrato. En general hablar de antioxidantes, como aquellas moléculas en que su consumo es sinónimo de salud. Según la bibliografía, que es muy amplia al respecto, los niveles de vitamina E, catalasa y selenio, que es el oligoelemento imprescindible en el grupo tiol, que son los antioxidantes enzimáticos o intracelulares, están a partir de los 45 años muy depleccionados, por lo que su suplementación es imprescindible, para evitar la aparición del estrés oxidativo.

Pueden actuar de la siguiente forma:

-previniendo la formación de ero.

-interceptando el ataque de ero.

-secuestrando los metabolitos reactivos y convirtiéndolos en moléculas menos reactivas.

-amplificando la resistencia de las dianas biológicas sensibles a los ataques de ero.

-manteniendo un ambiente favorable para la actuación de otros antioxidantes.

Bajo el punto de vista de la fisiología celular, los podemos dividir en tres tipos de antioxidantes: primarios, secundarios y terciarios.

Los antioxidantes primarios previenen la formación de nuevas especies de radicales libres. Estos antioxidantes actúan por conversión de los radicales libres existentes en moléculas menos dañinas o impidiendo su formación desde otras moléculas. Dentro de este grupo se incluye a la superóxido dismutasa, la glutatión, la catalasa y las proteínas ligadoras de metales (ferritina y celuloplasmina), que limitan la disponibilidad de hierro necesario para la formación del radical OH.

Los antioxidantes secundarios son protectores no enzimáticos o captadores de radicales libres que intervienen cuando hay superproducción de estos y los sistemas enzimáticos están desbordados, previniendo así las reacciones en cadena. Se incluye el glutatión, la vitamina e, vitamina c, acido úrico, bilirrubina y albúmina.

Los antioxidantes terciarios reparan biomoléculas dañadas por los radicales libres. Entre ellos se encuentran los sistemas proteoliticos intracelulares que actúan degradando proteínas dañadas oxidativamente, evitando de este modo su acumulación. También podemos destacar las enzimas reparadoras de ADN, la metionina sulfóxido reductasa y fosfolipasa a2, que corta los fosfolípidos oxidados de la membrana.

Otra forma de clasificar los antioxidantes muy utilizados en la literatura, es desde el punto de vista bioquímico: antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos, como los siguientes:

Superóxido dismutasa.- bajo este nombre se incluye a una familia de metaloproteinas, ampliamente distribuidas en la naturaleza, presente en todas las células, que utilizan en su metabolismo el oxígeno, e incluso en algunas bacterias anaerobias estrictas y facultativas. El superóxido dismutasa (SOD) transforma el radical superóxido en peróxido de hidrogeno, constituyendo el primer medio natural de defensa (Fridovich, 1989). Cabe destacar que el radical superóxido es inestable en medio acuoso y dismuta espontáneamente formando H_2O_2. Sin embargo la velocidad de dismutación espontanea no enzimática es relativamente baja. La catálisis de la reacción de dismutación llevada a cabo por la enzima superóxido dismutasa incrementa esta velocidad del orden de 10.000 veces.

Hay descritas cuatro formas diferentes de superóxido dismutasa, según el grupo próstetico metálico ligado a la enzima. La SOD dependiente de cobre y de zinc, que aparece en la mayoría de las células eucariotas se trata de un proteína soluble. Existen muchas formas isoméricas y la más abundante de las mismas se localiza mayoritariamente en el citosol y en

menor cantidad en el núcleo. Estas isoformas se encuentran a elevadas concentraciones en hígado, cerebro y testículos, en menor proporción en eritrocitos, pulmón y páncreas.

Hay dos tipos de SOD que contienen manganeso una de ellas se encuentra en la matriz mitocondrial, y en menor medida en el citosol. Su presencia en la mitocondria es de gran importancia, puesto que la cadena respiratoria es una de las fuentes más importantes generadoras de radicales libres en las células, de modo que constituye una de las barreras frente al daño oxidativo originado por los radicales libres.

Glutatión peroxidasa: es también un antioxidante primario, que convierte el peróxido de hidrógeno y los peróxidos de lípidos en moléculas inofensivas (chance (1979). hay dos clases de glutatión peroxidasa, y ambas requieren glutatión reducido como dador de equivalentes reductores.

Glutatión peroxidasa selenio dependiente: que es una proteína tetramérica, con cuatro átomos de selenio, que cataliza la reducción de peróxido de hidrógeno y peróxidos orgánicos. Su centro activo contiene una cisteína en la que el azufre ha sido sustituido por selenio. Su actividad se ve muy afectada por el contenido en selenio que depende de la dieta. Por eso es tan importante la suplementación del mismo, ya que es el responsable de ser el antioxidante que neutraliza el radical hidroxilo (OH).

El glutatión peroxidasa no selenio dependiente, solo tiene actividad frente a peróxidos orgánicos. La mayor parte de su actividad la encontramos en el citosol, aunque también en la matriz mitocondrial.

Catalasa.- participa en la eliminación del peróxido de hidrógeno, dando lugar a agua y una molécula de oxígeno. También es capaz de catalizar ciertas reacciones de peroxidación en presencia de h_2o_2, actuando sobre algunos alcoholes, aldehídos y ácidos orgánicos como sustrato. La catalasa la encontramos principalmente en los peroxisomas, si bien en los últimos años y por varios grupos de investigación, se ha descrito cierta actividad catalasa también a nivel de mitocondria y citosol.

El glutatión.- es el tiol no proteico más abundante en las células de mamíferos y está integrado por acido glutámico, cisteína y glicina. Su estructura le confiere cierta característica que hacen que el glutatión tenga una funcionalidad amplia y de gran importancia en el interior de las células. El glutatión se puede encontrar en dos formas

según su estado de oxido-reducción: como GSH o glutatión reducido o como GSSH o glutatión oxidado, que está compuesto por dos moléculas de GSH, unidas por un puente disulfuro entre las cisteínas. El GSH desempeña numerosas funciones metabólicas, una de ellas es la de proteger a la célula contra los radicales libres, los peróxidos y otros compuestos tóxicos, así como proteger frente al efecto nocivo de las radiaciones. Muchas de las funciones fisiológicas que desempeña el GSH se deben a dos características de su estructura química, la primera característica es que el grupo tiol de la cisteína que es el que interviene en las reacciones redox del glutatión y la segunda característica es que el enlace ganma-glutamilo, que le hace resistente a la degradación por peptidasas celulares. Este enlace solo es hidrolizable por la enzima glutamil transpeptidasa, situada en la membrana celular.

El glutatión, gracias a su grupo tiol, puede intervenir en reacciones de tipo redox, intercambiando electrones a graves del azufre de la cisteína que contiene en su estructura, pudiendo actuar reaccionando directamente sobre un radical libre. También el GSH reacciona con un radical libre formándose el radical GS, este radical es estable y persiste hasta encontrar otro radical y formar una molécula de GSSG.

Funciones fisiológicas del GSH.- el GSH participa en una gran cantidad de procesos fisiológicos. y de los más importantes, es el papel que tiene frente al estrés oxidativo dado que el GSH es uno de los antioxidantes principales de las células, constituye una importante barrera de protección frente al estrés oxidativo, el GSH protege a la membrana celular contra el daño oxidativo, ya que mantiene el estatus tiólico de la misma. El GSH puede excretarse también de las células y actuar como mecanismo de emergencia y actuar frente al daño que un exceso de GSSG puede causar, puesto que este reacciona con los grupos tioles de proteínas formando disulfuros mixtos.

Selenio.- de gran relevancia, es la regulación en la síntesis de proteínas. Cuando el GSH se oxida los procesos de iniciación y elongación de la traducción se inhibe. Cuando el GSSG se reduce la elongación se reanuda y parece que es un aumento en la concentración del mismo, lo que hace que la síntesis proteica se inhiba. Colabora también y de forma muy eficaz en la detoxificación de xenóbioticos, y es capaz de realizar la captación de algunos tejidos, constituyendo además un reservorio de cisteína.

Sin embargo el papel más importante es el de poder reaccionar con los radicales libres, sin intervención enzimática alguna y detoxificarlos o bien puede reducir los peróxidos formados por medio de la glutatión peroxidasa. Cuando se da una agresión oxidativa, el GSH se oxida a GSSG por medio de la reacción catalizada por la glutatión peroxidasa, el GSSG formado es inmediatamente reducido a GSH por medio del enzima glutatión reductasa. Esta última requiere NSDPH como cofactor, que será suministrado por la glucosa-6-fosfatodeshidrogenasa. Tanto la glutatión peroxidasa como la glutión reductasa la encontramos predominantemente en el citosol, existiendo también cierta actividad. a nivel mitocondrial.

Vitamina E.- bajo esta denominación se incluye una familia de compuestos fenólicos llamados toconoles, de los que en el organismo existen 4 tipos principales: alfa, beta, gamma y delta tocofenol. Estos grupos de compuestos altamente lipofílicos, tienden a concentrarse en las membranas biológicas y en lipoproteínas plasmáticas. Es el antioxidante más potente del organismo, en cuanto a su capacidad como bloqueador de la cadena de lipoperoxidación o también llamada *peroxidación lipidica* que se inicia en la extracción de un electrón de un carbono contiguo a un doble enlace por parte de un iniciador, como ser el OH. De entre todas las macromoléculas presente en los tejidos animales, los ácidos grasos poliinsaturados son los más sensibles al ataque por parte de los radicales libres, debido a la posesión de dobles enlaces. El alfa tocoferol es dentro del grupo, el antioxidante más eficiente de la fase lipídica que contiene grupos metilo adyacentes a los grupos hidroxilo a los grupos fenólicos y están óptimamente posicionados en las membranas. Los tocofenoles además tienen capacidad de captar energía del oxigeno singlete.

Los niveles de vitamina E en plasma en humanos son de alrededor de 22 nanomoles/l, se encuentra en tejidos como el hígado, riñón, tejido adiposo o adrenal. La dieta humana está compuesta por multitud de alimentos que contienen esta vitamina, como los aceites vegetales, como girasol, maíz, soja, etc., y productos realizados a partir de estos aceites, como la margarina o mayonesa. De los estudios realizados se puede concluir los siguientes puntos:

*la toxicidad de la vitamina e es muy baja,

*estudios en animales demuestran que la vitamina e no es mutágenica, no es carcinogénica o teratogénica.

* En estudios realizados a doble ciego, las dosis orales tienen pocos efectos colaterales, incluso a dosis tan elevadas como 3.2 g/día.

* Dosis de hasta 1000 mg por día son consideradas enteramente seguras y sin efectos secundarios.

En general la vitamina E, es el principal antioxidante de las membranas en los humanos, puesto que el pool de vitamina e es pequeño, el sistema solo es funcional, si la tasa de la misma se regenera a la misma velocidad con la que se degrada, por tanto es del todo imprescindible la suplementación en pacientes que padecen de un proceso de tipo crónico, como es la osteoartrosis, con el fin de disminuir el estrés oxidativo.

De los datos expuestos anteriormente, se muestra que siempre existe un cierto nivel de estrés oxidativo, lo cual supone que una fracción de los radicales libres generados en el organismo, son capaces de alcanzar sus dianas moleculares, antes de que puedan ser eliminados por mecanismos antioxidantes. Sin embargo la mayor parte de los radicales libres, al menos en muchas partes de la célula, son eliminados con antioxidantes, de hecho el mantenimiento de la homeostasis redox del tejido solo es posible mediante un equilibrio entre la intensidad de generación y la intensidad de eliminación de los radicales libres. Este equilibrio se puede dar con altos niveles de generación y destrucción y viceversa, como ocurre en las distintas especies animales. También puede darse dentro de una misma especie en distintas ocasiones, así cuando aumenta la producción de radicales libres por causas exógenas o endógenas, como ocurre en el ejercicio o en hipermetabolismo, se puede dar una regulación compensadora a la alza en las defensas antioxidantes. Cuando este equilibrio entre generación y destrucción de radicales libres se altera, la célula entra en un proceso degradativo patológico, de aquí la enorme importancia del estudio de los distintos sistemas antioxidantes celulares.

Conclusiones: puesto que se está hablando de un proceso de tipo crónico, en la cual acontecen episodios de tipo agudo, que tiene que ser el médico el que se responsabilice de su tratamiento, que aquí no mencionamos porque no es la causa del trabajo, lo que más nos interesa es que hacer con el paciente en las intercrisis. El paciente artrosico y en general las personas a partir de los 45-50 años, si al levantarse por la mañana, si no tiene ningún tipo de dolor, es que está muerto tal y como se dice en el argot de los sanitarios familiarizados con este tipo de patología. o lo que es lo mismo es al comenzar la jornada cuando el paciente afectado de una artrosis lo pasa peor, porque tiene que “calentar las articulaciones” y para ello tiene que pasar un tiempo, que es distinto pasa cada paciente. lo cual genera una

calidad de vida mermada, según los casos. Un consumo de medicamentos importante. bajas laborales frecuentes, etc… el interés de este trabajo es la prevención.

Que el tratamiento con ozono es eficaz, no es cuestionable y lo avalan muchos trabajos publicados, pero tenemos que matizar el tema. Cuando administramos ozono, sea por la vía que sea (discolisis, autohemoterapia, paravertebral), lo que inyectamos en el paciente es electrones, y estos lo que hacen es comportarse como un antioxidante (aunque no lo es), y donan estos a los radicales libres que constantemente se están produciendo en la todas las células, y que como se sabe carecen de un electrón en su órbita más periférica. El problema es que se tiene que administrar el citado ozono con mucha más frecuencia que semanalmente, y como prueba de ello es que los pacientes a los 2-3 días, y después de tener una mejoría inicial importante, les vuelven a reaparecer los dolores. Evidentemente no puede administrar ozono diariamente o cada dos días, entre otras cosas porque es caro y molestos los continuos pinchazos por ello es la administración a pequeñas dosis es la solución ideal y la idea está en el aceite puro de oliva mezclado con ozono, pero no se va a administrar toda la vida el citado ozono, por ello es por lo que en el mismo aceite ozonizado se mezcla con antioxidantes enzimáticos, que son los que existen en el interior de las células y se trata de la primera barrera defensiva de todos los organismos.

La administración de medicamentos por vía tópica, es decir que acceden a la circulación sistémica a través de los capilares sanguíneos que están bajo la piel, tiene las siguientes ventajas

*rápida absorción sistémica, sin variabilidad interindividual.

*evita el primer paso hepático.

*evita las fluctuaciones de las concentraciones plasmáticas.

*duración de acción prolongada.

*indolora, por lo que aumenta la aceptación y cumplimentación del tratamiento.

*disminución de la frecuencia de la administración.

Descripción de la invención

El aceite ozonizado con antioxidantes, objeto de la presente invención consiste en una base de aceite de origen vegetal al que se añade:

- Estafilococo Aureus atenuado que estimula el sistema de defensa sin producir enfermedades y que estimula la producción del antioxidante catalasa dentro de las células
- Tocoferol alfa
- Selenio

El estafilococo aureus atenuado son bacterias de colección inactivadas por calor en tres ciclos de 105 ^{0}C durante 18 minutos.

Realización preferente

Una realización preferente del aceite ozonizado, objeto de la presente descripción, consiste en una base de aceite de origen vegetal, preferentemente aceite de oliva virgen, al que se añade por cada 100 ml las siguientes sustancias:

- Estafilococo Aureus atenuado de 5 a 10 gotas, que estimula el sistema de defensa sin producir enfermedades y que estimula la producción del antioxidante catalasa dentro de las células.
- Tocoferol alfa 400 mg
- Selenio 50 a 100 ng/2 ml.

La forma de utilización del aceite ozonizado con antioxidantes es la siguiente:

a) Análisis y determinación de los niveles de catalasa, tocoferol alfa y selenio en sangre en el paciente.
b) Determinación de la cantidad de estafilococo aureus atenuado, tocoferol alfa y selenio a incorporar dentro de los límites establecidos.
c) El paciente se da una fricción diaria en las zonas afectadas por la artrosis con aplicación simultánea de calor durante tres meses.
d) Nuevo análisis y determinación de los niveles de catalasa, tocoferol alfa y selenio en sangra en el paciente.

e) Determinación de la cantidad de estafilococo aureus atenuado, tocoferol alfa y selenio a incorporar dentro de los límites establecidos y el tratamiento se va repitiendo.

REIVINDICACIONES

1. Aceite ozonizado con antioxidantes **caracterizado** porque consiste en los siguientes componentes:
    - Aceite de origen vegetal ozonizado
    - Estafilococo Aureus atenuado
    - Tocoferol alfa
    - Selenio

2. Aceite ozonizado con antioxidantes, según reivindicación 1, **caracterizado** porque su composición es:
    - Aceite de origen vegetal ozonizado 100 ml
    - Estafilococo Aureus atenuado 5 a 10 gotas.
    - Tocoferol alfa 400 mg
    - Selenio 50 a 100 ng/2 ml.

3. Aceite ozonizado con antioxidantes, según reivindicación 1 o 2, **caracterizado** porque el aceite de origen vegetal es aceite de oliva.

OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(21) N.º solicitud: 201630796

(22) Fecha de presentación de la solicitud: 10.06.2016

(32) Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

(51) **Int. Cl. :** Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	(56) **Documentos citados**	**Reivindicaciones afectadas**
A	WO 0137829 A1 (GOMEZ MORALEDA, M. et al.) 31.05.2001, páginas 5-8; páginas 9-10, Ejemplo 1; páginas 12-13, Ejemplo 3; reivindicaciones 1, 3, 8, 9	1-3
A	WO 2007137881 A1 (SANO MEDICAL BVBA) 06.12.2007, página 4, líneas 5-30; página 5, líneas 1-25; página 7, líneas 7-23; páginas 9-13, Ejemplos 4-9, 11; reivindicaciones 4, 5	1, 3
A	WO 2012168770 A1 (UNIVERSITA' DEL SALENTO) 13.12.2012, página 1; página 4, líneas 12-30; página 9, línea 24-página 10, línea 25; reivindicaciones 6-9	1, 3
A	US 5183911 A (WASHUETTL J., VIEBAHN R.) 02.02.1993, columna 2; reivindicaciones 1-3, 10	1, 3

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia
Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría
A: refleja el estado de la técnica
O: referido a divulgación no escrita
P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud
E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

☒ para todas las reivindicaciones ☐ para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe	**Examinador**	**Página**
07.02.2017	A. Sukhwani	1/4

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

A61K36/63 (2006.01)
A61K36/185 (2006.01)
A61K31/355 (2006.01)
A61K33/04 (2006.01)
A61K39/085 (2006.01)
A61P19/02 (2006.01)

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

A61K, A61P

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, X-FULL, NPL, CAPLUS, FSTA, KOSMET, SCISEARCH

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 07.02.2017

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones	1 - 3	**SI**
	Reivindicaciones		**NO**
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones	1 - 3	**SI**
	Reivindicaciones		**NO**

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión.-

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

1. Documentos considerados.-

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	WO 0137829 A1 (GOMEZ MORALEDA, M. et al.)	31.05.2001
D02	WO 2007137881 A1 (SANO MEDICAL BVBA)	06.12.2007
D03	WO 2012168770 A1 (UNIVERSITA' DEL SALENTO)	13.12.2012
D04	US 5183911 A (WASHUETTL J., VIEBAHN R.)	02.02.1993

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

NOVEDAD

Los documentos citados **D01** a **D04** se refieren a aceites ozonizados con otros componentes, algunos antioxidantes, siendo el más relevante **D01**, así:

- **D01** divulga una composición que comprende aceites ozonizados con otras sustancias activas de aplicación en procesos de stress oxidativo como procesos inflamatorios (páginas 5-8; reivindicaciones 1, 3, 8, 9) en donde gracias a la combinación se consigue un efecto sinérgico (página 8, líneas 19-22). En cuanto a las sustancias activas se enumera entre otros: los microelementos como el selenio (página 5, líneas 29-36), las vitaminas como la vitamina E (página 6, líneas 1-5) o los microorganismos (página 6, líneas 31-35). En el ejemplo 1 se obtiene el aceite de oliva ozonizado (página 9-10) y en el ejemplo 3, se incluye el aceite ozonizado con vitamina E (páginas 12, 13).

- **D02** se refiere a un producto para tratar heridas que comprende miel y un aceite ozonizado, como el aceite de oliva, con otros ingredientes como la vitamina E (página 4, líneas 5-30; página 5, líneas 1-25; página 7, líneas 7-23; páginas 9-13, Ejemplos 4-9, 11; reivindicaciones 4, 5).

- **D03** divulga un proceso para ozonizar un aceite vegetal, en concreto, aceite de oliva, y la composición de dicho aceite con vitamina A y/o vitamina E antioxidante que mejora la actividad terapéutica del producto tópico (página 1; página 4, líneas 12-30; página 9, línea 24-página 10, línea 25; reivindicaciones 6-9)

- **D04** se refiere a un proceso para producir aceites ozonizados como aceite de oliva en presencia de un sistema redox que comprende vitamina E y, también lleva un antioxidante biológico (columna 2; reivindicaciones 1-3, 10).

El documento **D01** es el más cercano porque divulga la sinergia de aceites ozonizados como el aceite de oliva con sustancias activas como vitaminas entre otras la vitamina E, componentes de la solicitud en estudio, pero en D01 si bien menciona la incorporación de microelementos como el selenio, éste no está en los ejemplos de realización, además, no divulga el Estafilococo aureus atenuado de la invención reivindicada, por lo que no anticipa la invención.

Los documentos **D02-D04** si bien se refieren a aceites ozonizado con vitamina E no divulgan el selenio ni el Estafilococo aureus atenuado, componentes del aceite ozonizado con antioxidantes reivindicados de la solicitud en estudio.

Por ello, a la vista de los documentos D01 a D04, se puede concluir que las reivindicaciones **1 - 3** son nuevas de acuerdo con el Artículo 6 LP 11/86.

ACTIVIDAD INVENTIVA

El aceite ozonizado con antioxidantes, objeto de la invención, que consiste en aceite vegetal ozonizado, Estafilococo aureus atenuado, tocoferol alfa (vitamina E) y selenio, no resulta obvio para el experto en la técnica porque en los documentos citados si bien se combinan antioxidantes con aceites ozonizados, no se divulga en ellos el Estafilococo aureus atenuado. Tampoco el selenio, que si está enumerado en **D01,** no se incluye en los ejemplos. Se considera, por ello, que el aceite ozonizado, con esos antioxidantes concretos reivindicados y en esas cantidades, no resulta evidente para el experto en la materia.

Por ello, a la vista de los documentos D01 a D04, se puede concluir que las reivindicaciones **1 - 3** tienen actividad inventiva según el Artículo 8 LP 11/86.