

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 779 851**

51 Int. Cl.:

<b>A61K 31/20</b>	(2006.01)	<b>A61K 9/14</b>	(2006.01)
<b>A61K 31/201</b>	(2006.01)		
<b>A61K 31/202</b>	(2006.01)		
<b>A61P 29/00</b>	(2006.01)		
<b>A61P 17/00</b>	(2006.01)		
<b>A61P 25/00</b>	(2006.01)		
<b>A61P 19/00</b>	(2006.01)		
<b>A61P 27/00</b>	(2006.01)		
<b>A61K 45/06</b>	(2006.01)		
<b>A61K 9/08</b>	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.03.2014** **E 17169929 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.02.2020** **EP 3219316**

54 Título: **Mezcla de ácidos grasos (F.A.G., grupo de ácidos grasos) para su uso en el tratamiento de patologías inflamatorias**

30 Prioridad:

**08.03.2013 IT MI20130354**  
**08.03.2013 US 201361774796 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**20.08.2020**

73 Titular/es:

**AGAIN LIFE ITALIA SRL (100.0%)**  
**Via Lago D'Orta, 1, Palazzo Work**  
**36015 Schio (VI), IT**

72 Inventor/es:

**BURATTIN, LODOVICO**

74 Agente/Representante:

**ELZABURU, S.L.P**

**Observaciones:**

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes**

**ES 2 779 851 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

Mezcla de ácidos grasos (F.A.G., grupo de ácidos grasos) para su uso en el tratamiento de patologías inflamatorias

**Estado de la técnica**

5 Los ácidos grasos son ácidos carboxílicos alifáticos y representan los componentes constitutivos de casi todos los lípidos complejos y de las grasas vegetales y animales. Estos compuestos pueden clasificarse según la longitud de la cadena de carbono y/o la presencia de dobles enlaces en dicha cadena (ácidos grasos saturados, insaturados).

10 En particular, se considera que algunos ácidos grasos insaturados son esenciales porque el cuerpo no los sintetiza, sino que deben suplementarse mediante la dieta. Entre estos, algunos ácidos se distinguen según la posición del último doble enlace en la cadena de carbono, tal como el omega-3, en donde el último doble enlace se encuentra en el tercer carbono desde el extremo (por ejemplo, ácido linolénico), omega-6 en donde el último doble enlace se encuentra en el sexto carbono desde el extremo (por ejemplo, ácido linoleico) o, además, omega-9 en donde el último doble enlace se encuentra en el noveno carbono desde el extremo (por ejemplo, ácido oleico).

15 En 1964, Bergstrom, Samuelsson *et al.* (Nutrition classics. Biochimica et Biophysica Acta 90:207-10, 1964. The enzymatic formation of prostaglandin E2 from arachidonic acid. Prostaglandins and related factors 32) demostraron el papel y los efectos biológicos de los lípidos en el proceso inflamatorio y en otras enfermedades.

En 1979, se descubrió el primer fosfolípido, concretamente el fosfatidilinositol, junto con el papel del mismo en la activación de los procesos de respuesta celular, siendo dicho fosfolípido capaz de activar y controlar la reactividad a través de elementos de mensajería.

20 Los lípidos, por lo tanto, desempeñan diferentes papeles en el cuerpo, incluyendo actuar como mensajeros químicos que pueden provocar cambios en el papel de una célula individual o determinar acciones que pueden cambiar el microentorno, como en el caso de los procesos involucrados en la respuesta a los ataques inflamatorios. Los lípidos en forma esterificada pueden encajar en la membrana y transportarse como elementos de señal para otras células. Estos compuestos también pueden unirse a ciertas proteínas y permanecer inactivos hasta que alcanzan el sitio de acción y se unen al receptor apropiado. Se sabe que los ácidos grasos esenciales, tales como el ácido linoleico y el ácido linolénico, son precursores del ácido araquidónico presente en fosfolípidos de membrana (por ejemplo, los de la membrana celular) y de muchos tipos diferentes de eicosanoides, es decir, sustancias involucradas en la respuesta inflamatoria del cuerpo, incluyendo los ácidos hidroxieicosatetraenoicos, prostanoides (prostaglandinas, tromboxanos y prostacilinas), leucotrienos, lipoxinas y resolvinas, mediadores químicos que desempeñan un papel importante en el dolor, la fiebre, el edema, la coagulación sanguínea y, más en general, la inflamación.

30 Como se sabe, la respuesta inflamatoria es una reacción fisiológica multifactorial caracterizada por la participación de diferentes células del sistema inmunitario, por ejemplo mastocitos, macrófagos, basófilos y/o linfocitos, con diferentes tiempos de intervención.

35 Una de las primeras células que interviene en el proceso inflamatorio es el mastocito, cuya capacidad para responder y desencadenar el proceso inflamatorio es del orden de microsegundos. La activación del mismo genera una serie de reacciones que dan como resultado la liberación de mediadores preformados contenidos dentro del citoplasma del mismo; en rápida sucesión, se llaman y se activan los macrófagos.

40 La función de los macrófagos se estructura en dos fases: la primera, conocida como M1, implica la activación de una serie de reacciones que dan como resultado la liberación en el microentorno de mediadores químicos, tal como NGF (factor de crecimiento nervioso), VEGF (factor de crecimiento endotelial vascular), FGF (factor de crecimiento de fibroblastos), histamina, interleucinas, citocinas y productos lipídicos, tales como ácido araquidónico, prostaglandinas y heparina, que pueden desencadenar y apoyar el proceso inflamatorio, así como "atraer" a las otras células del sistema inmunitario al sitio de inflamación. La segunda fase, conocida como M2, implica la activación del fenómeno "secuestrador" destinado a eliminar los desechos resultantes de la destrucción del agente responsable de la acción inflamatoria. Entre la fase de activación de macrófagos en M1 y M2, los basófilos, cuya función es liberar histamina en el microentorno sometido a la agresión del agente inflamatorio, son atraídos y activados, lo que conduce a vasodilatación y, en consecuencia, a edema como resultado de diapédesis o extravasación de células inmunitarias.

Cuando la reacción inflamatoria ha alcanzado la fase de diapédesis, los linfocitos, cuyo papel es contrarrestar el agente patógeno, alcanzan la zona. Todo el proceso inflamatorio se desencadena en solo unos segundos.

50 Todos los sistemas biológicos complejos están regulados por un sistema de oposición basado en mecanismos de agonismo y antagonismo. De manera más general, la desgranulación de los mediadores de mastocitos desencadena una serie de fenómenos que se sintetizan durante el proceso inflamatorio. Las células del sistema inmunitario mencionadas anteriormente se autorregulan mediante mecanismos de receptores finos que implican un sistema sofisticado de receptores, expresados en la membrana citoplasmática, que pueden sobreexpresarse durante los procesos de estimulación.

Esta sobreexpresión determina una liberación, dentro del espacio extracelular, de una serie de mediadores químicos, que desencadenan una serie de eventos cuyo propósito es defender el microentorno tisular y provocar fenómenos de reparación. El sistema se regula mediante la producción de antagonistas de receptores, que se producen por la propia célula, a partir de ácidos grasos tomados de la membrana celular.

5 Estos sistemas biológicos se basan en el control de receptores: tras la estimulación del agente patógeno, las células expresan receptores específicos que se saturan con mediadores de producción propia, es decir, formados a partir de los ácidos grasos que constituyen las membranas de dichas células. La expresión de receptores es el medio por el cual las células involucradas en el proceso inflamatorio pueden transferir factores de crecimiento, interleucinas, citocinas, etc., al microentorno. La saturación de estos receptores permite primero la reducción y luego la modulación de la desgranulación de los mediadores presentes dentro del citoplasma de las células involucradas en el proceso inflamatorio (los mastocitos en particular) hasta que la estimulación inducida por la presencia del agente patógeno se detiene.

15 Sin embargo, esta regulación significa que llega a su fin cuando la disminución continua de los ácidos grasos en las membranas celulares provoca sufrimiento a la propia célula. En esta condición, los receptores están sobreexpresados y, para la célula, esto constituye una señal de desgranulación destinada a los mediadores que desencadena fenómenos de defensa que ya no son necesarios.

20 Por lo tanto, si no hubiera receptor de control de receptores, las células inducirían obviamente la desgranulación de todo lo presente en el citoplasma, conduciendo a la atracción de otras células al microentorno. Esto conduciría entonces a una irritación del sistema que, permaneciendo activa, podría convertirse en una fuente de daño, dando lugar a patologías inflamatorias crónicas y enfermedades autoinmunes, tales como artritis reumatoide, esclerosis múltiple y lupus eritematoso sistémico.

Por lo tanto, es muy importante que, en estas condiciones patológicas, el cuerpo pueda controlar el proceso inflamatorio hiperactivo a través de la formación de un antagonista de receptor que consiste en ácidos grasos tomados de la membrana de las mismas células.

25 En la actualidad, para satisfacer esta necesidad, la investigación se ha concentrado en estrategias dietéticas diseñadas para reducir la síntesis de mediadores químicos proinflamatorios, tales como prostaglandinas, reduciendo el consumo de aceites vegetales y carnes grasas, y aumentando la ingesta de pescado y ciertos aceites en particular, tales como lino y cáñamo. Con este método, se piensa que se incorporarían mayores cantidades de ácido eicosapentaenoico y ácido docosahexaenoico (omega-3) en los fosfolípidos de membrana en lugar de ácido araquidónico.

30 Sin embargo, se conoce bien que estas estrategias dietéticas no son suficientes para erradicar patologías inflamatorias graves tales como artritis reumatoide, colitis ulcerosa crónica, lupus eritematoso sistémico, enfermedad inflamatoria pélvica o aterosclerosis, y es necesario recurrir a terapias farmacológicas.

35 En la actualidad, las terapias farmacológicas utilizadas para las patologías inflamatorias incluyen corticosteroides (tales como cortisona y sustancias análogas) o AINE (fármacos antiinflamatorios no esteroideos), que actúan en diferentes niveles de la cascada del ácido araquidónico. Los corticosteroides contrarrestan la liberación de ácido araquidónico de fosfolípidos a través de la inhibición de la actividad de fosfolipasa, incluyendo la fosfolipasa A2 (PLA2) y la fosfolipasa C (PLC). En particular, el mecanismo por el cual los corticosteroides ejercen su acción antiinflamatoria e inmunosupresora está altamente estructurado e involucra varios procesos bioquímicos implementados por la célula en respuesta a estímulos potencialmente dañinos (por ejemplo, agentes infecciosos, alérgenos, sustancias extrañas, células anormales, etc.).

40 El papel de este mecanismo es desencadenar una respuesta inmunitaria, mantenerla hasta que se elimine el riesgo y luego amortiguar la respuesta de manera que no llegue a volverse dañina (como sucede, por ejemplo, en casos de inflamación crónica o enfermedades autoinmunes). En particular, los corticosteroides inhiben los procesos celulares que conducen a la síntesis de sustancias proinflamatorias e inmunostimuladoras y, viceversa, activan los procesos celulares que conducen a la síntesis de sustancias antiinflamatorias e inmunosupresoras, con el fin de reducir los síntomas de la enfermedad.

45 Aparte del efecto antiinflamatorio/inmunosupresor, los efectos secundarios de los corticosteroides sintetizados generalmente se derivan del hecho de que interfieren con los sistemas homeostáticos del cuerpo y, por lo tanto, pueden provocar: hipertensión, retención de agua, hiperglucemia, pérdida de potasio, osteoporosis, hipertrofia muscular, fragilidad capilar, cicatrización de heridas tardía, hiperlipidemia, acumulación de tejido adiposo en la cara, cuello y abdomen, úlceras gastroduodenales, coagulabilidad sanguínea aumentada, trastornos hematológicos, euforia e insomnio.

55 Además, en tratamiento prolongado, estas sustancias farmacológicas tienden a inhibir la producción de hormonas naturales análogas por parte de las glándulas suprarrenales, provocando por tanto una situación de insuficiencia suprarrenal, que se produce con graves consecuencias, especialmente tras la interrupción de la terapia. Además, el uso prolongado de corticosteroides está relacionado con la acción inmunosupresora de los mismos, lo que aumenta la susceptibilidad a infecciones.

Entretanto, los AINE interfieren con la cascada del ácido araquidónico en un nivel diferente, inhibiendo las ciclooxigenasas COX1 y 2, que están involucradas en procesos inflamatorios. Los efectos secundarios más comunes son los que afectan al sistema digestivo, en particular al estómago, e incluyen dolor, sensaciones de ardor, o náuseas, y ulceración de la mucosa gástrica con posible sangrado; así como reacciones cutáneas en individuos susceptibles (eritema, urticaria).

Además, el documento US2010/113387A1 describe una composición que comprende ácido mirístico, ácido palmítico, ácido esteárico, ácido oleico, ácido linoleico, ácido eicosapentaenoico (EPA), ácido docosahexaenoico (DHA) y excipientes para el tratamiento de infecciones virales, infecciones bacterianas e inflamación. El documento US2012/252888A1 describe una composición líquida farmacéutica que comprende DHA, EPA, ácido linoleico, ácido gamma linolénico y excipientes, para el tratamiento de trastornos neurodegenerativos, esclerosis múltiple y enfermedades autoinmunes.

El documento US2005/208162A1 describe una composición de ácidos grasos que comprende ácido palmítico, ácido esteárico, ácido oleico, ácido linoleico, linolénico, ácido mirístico y excipientes para el tratamiento y prevención de diferentes tipos de artritis y afecciones inflamatorias de las articulaciones, enfermedades periodontales y psoriasis.

El documento JP2009149599 A describe grasas y aceites medicinales que comprenden ácido palmítico, ácido oleico, ácido esteárico, ácido linoleico, ácido mirístico y excipientes para el tratamiento de la inflamación, es decir, dermatitis atópica y el documento WO2011/027373A1 se refiere a una composición para su uso farmacéutico o veterinario, que comprende palmitoiletanolamida para su uso en humanos o veterinario, que contiene una cantidad terapéuticamente eficaz de palmitoiletanolamida en forma ultra micronizada, en donde más del 90% en peso de palmitoiletanolamida tiene tamaños de partícula menores de 6 micrómetros, junto con excipientes farmacéuticamente aceptables.

Por lo tanto, existe la necesidad de identificar uno o más compuestos para el tratamiento de la inflamación que puedan bloquear eficazmente la hiperactividad del proceso inflamatorio, reduciendo los efectos secundarios asociados con tratamientos convencionales.

#### Breve descripción de las figuras

Figura 1: Tabla resumen que contiene las estructuras químicas de los ácidos grasos de la presente invención.

Figura 2: Mecanismo de acción de macrófagos

Figura 3: Determinación de  $CI_{50}$  para AS66

Figura 4: Curva patrón y porcentaje de inhibición de IL-8 con AS66

Figura 5: Curva patrón y porcentaje de inhibición de IL-6 con AS66

Figura 6: Determinación de  $CI_{50}$  para LC88

Figura 7: Curva patrón y porcentaje de inhibición de IL-6 con LC88

#### Descripción

Sorprendentemente, se ha encontrado que una mezcla de ácidos grasos específicos puede tratar eficazmente el proceso inflamatorio, con control mejorado del sistema regulador y sin efectos secundarios, mediante la modulación biológica de las células involucradas en el proceso inflamatorio (Modulación Biológica de células inflamatorias BMIC, "Biological Modulation of Inflammatory Cells").

Se describe una mezcla de al menos tres ácidos grasos, que contienen de desde 8 hasta 24 átomos de carbono, dichos ácidos grasos pueden ser saturados, insaturados o mezclas de los mismos.

La mezcla contiene preferiblemente de desde tres hasta diez ácidos grasos y, más preferiblemente, dicha mezcla contiene cuatro, cinco, ocho o nueve ácidos grasos.

Dichos ácidos grasos se seleccionan preferiblemente de ácido palmítico, ácido oleico, ácido esteárico, ácido linoleico, ácido alfa-linolénico, ácido gamma-linolénico, ácido eicosapentaenoico (EPA), ácido docosahexaenoico (DHA), ácido azelaico y ácido mirístico, o una mezcla de los mismos.

El término "ácido palmítico", según esta invención, se refiere al ácido hexadecanoico, es decir, un ácido monocarboxílico saturado que contiene 16 átomos de carbono (Figura 1).

El término "ácido oleico", según esta invención, se refiere al ácido cis-9-octadecenoico, es decir, un ácido monocarboxílico insaturado (omega-9) que contiene 18 átomos de carbono (Figura 1).

El término "ácido esteárico", según esta invención, se refiere al ácido octadecanoico, es decir, un ácido monocarboxílico saturado que contiene 18 átomos de carbono (Figura 1).

El término "ácido linoleico", según esta invención, se refiere al ácido *cis,cis-9,12*-octadecenoico, es decir, un ácido monocarboxílico insaturado (*omega-6*) que contiene 18 átomos de carbono (Figura 1).

El término "ácido alfa-linolénico", según esta invención, se refiere al ácido *cis,cis,cis-9,12,15*-octadecatrienoico, es decir, un ácido monocarboxílico insaturado (*omega-3*) que contiene 18 átomos de carbono (Figura 1).

- 5 El término "ácido gamma-linolénico", según esta invención, se refiere al ácido *cis,cis,cis-6,9,12*-octadecatrienoico, es decir, un ácido monocarboxílico insaturado (*omega-6*) que contiene 18 átomos de carbono (Figura 1).

El término "ácido eicosapentaenoico (EPA)", según esta invención, se refiere al ácido (*5Z,8Z,11Z,14Z,17Z*)-eicosa-5,8,11,14,17-pentenoico, es decir, un ácido monocarboxílico insaturado (*omega-3*) que contiene 20 átomos de carbono (Figura 1).

- 10 El término "ácido docosahexaenoico (DHA)", según esta invención, se refiere al ácido (*4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z*)-docosa-4,7,10,13,16,19-hexaenoico, es decir, un ácido monocarboxílico insaturado (*omega-3*) que contiene 22 átomos de carbono (Figura 1).

El término "ácido azelaico", según esta invención, se refiere al ácido nonanodioico, es decir, un ácido dicarboxílico saturado que contiene 9 átomos de carbono (Figura 1).

- 15 El término "ácido mirístico", según esta invención, se refiere al ácido tetradecanoico, es decir, un ácido monocarboxílico saturado que contiene 14 átomos de carbono (Figura 1).

Preferiblemente, la mezcla descrita contiene seis ácidos grasos, concretamente: ácido palmítico, ácido oleico, ácido linoleico, ácido alfa-linolénico, ácido gamma-linolénico y ácido eicosapentaenoico (EPA). Preferiblemente, la mezcla descrita contiene siete ácidos grasos, concretamente: ácido palmítico, ácido oleico, ácido esteárico, ácido linoleico, ácido alfa-linolénico, y ácido eicosapentaenoico (EPA) y ácido docosahexaenoico (DHA).

- 20

Más preferiblemente, la mezcla descrita contiene cuatro ácidos grasos, concretamente: ácido palmítico, ácido oleico, ácido esteárico y ácido linoleico.

Más preferiblemente, la mezcla descrita contiene cinco ácidos grasos, concretamente: ácido palmítico, ácido oleico, ácido esteárico, ácido linoleico y ácido alfa-linolénico.

- 25 Más preferiblemente, dicha mezcla contiene ocho ácidos grasos, concretamente: ácido palmítico, ácido oleico, ácido esteárico, ácido linoleico, ácido alfa-linolénico, ácido gamma-linolénico, ácido eicosapentaenoico (EPA) y ácido docosahexaenoico (DHA).

Más preferiblemente, dicha mezcla contiene nueve ácidos grasos, concretamente: ácido palmítico, ácido oleico, ácido esteárico, ácido linoleico, ácido alfa-linolénico, ácido gamma-linolénico, ácido eicosapentaenoico (EPA), ácido docosahexaenoico (DHA) y ácido azelaico.

- 30

Según una descripción, el ácido palmítico está contenido en la mezcla en una cantidad comprendida entre el 0,2% y el 48% en peso; el ácido oleico está contenido en la mezcla en una cantidad comprendida entre el 0,2% y el 38% en peso; el ácido esteárico está contenido en la mezcla en una cantidad comprendida entre el 0,2% y el 42% en peso; el ácido linoleico está contenido en la mezcla en una cantidad comprendida entre el 0,2% y el 40% en peso; el ácido alfa-linolénico está contenido en la mezcla en una cantidad comprendida entre el 0,2% y el 38% en peso; el ácido gamma-linoleico está contenido en la mezcla en una cantidad comprendida entre el 0,2% y el 30% en peso; el ácido eicosapentaenoico está contenido en la mezcla en una cantidad comprendida entre el 0,2% y el 25% en peso; el ácido docosahexaenoico está contenido en la mezcla en una cantidad comprendida entre el 0,2% y el 25% en peso; el ácido azelaico está contenido en la mezcla en una cantidad comprendida entre el 0,2% y el 40% en peso; el ácido mirístico está contenido en la mezcla en una cantidad comprendida entre el 0,005% y el 0,01% en peso;

- 35

Los porcentajes mencionados anteriormente son cantidades en peso expresadas con respecto al peso total de la mezcla.

Cuando la mezcla mencionada anteriormente contiene cuatro ácidos grasos, el ácido palmítico está contenido en la mezcla mencionada anteriormente en una cantidad comprendida entre el 0,2% y el 48% en peso, preferiblemente entre el 30% y el 45% en peso, y más preferiblemente hasta aproximadamente el 40% del peso total de la mezcla.

- 45

En la mezcla mencionada anteriormente, el ácido oleico está contenido en una cantidad comprendida entre el 0,2% y el 38% en peso, preferiblemente entre el 15% y el 30% en peso, y más preferiblemente hasta aproximadamente el 25% del peso total de la mezcla.

En la mezcla mencionada anteriormente, el ácido esteárico está contenido en una cantidad comprendida entre el 0,2% y el 42% en peso, preferiblemente entre el 20% y el 35% en peso, y más preferiblemente hasta aproximadamente el 32% del peso total de la mezcla.

- 50

- En la mezcla mencionada anteriormente, el ácido linoleico está contenido en una cantidad comprendida entre el 0,2% y el 38% en peso, preferiblemente entre el 1% y el 4% en peso, y más preferiblemente hasta aproximadamente el 3% del peso total de la mezcla.
- 5 Cuando la mezcla mencionada anteriormente contiene cinco ácidos grasos, el ácido palmítico está contenido en la mezcla mencionada anteriormente en una cantidad comprendida entre el 0,2% y el 48% en peso, preferiblemente entre el 20% y el 40% en peso, y más preferiblemente hasta aproximadamente el 38% del peso total de la mezcla.
- En la mezcla mencionada anteriormente, el ácido oleico está contenido en una cantidad comprendida entre el 0,2% y el 38% en peso, preferiblemente entre el 20% y el 30% en peso, y más preferiblemente hasta aproximadamente el 27% del peso total de la mezcla.
- 10 En la mezcla mencionada anteriormente, el ácido esteárico está contenido en una cantidad comprendida entre el 0,2% y el 42% en peso, preferiblemente entre el 7% y el 15% en peso, y más preferiblemente hasta aproximadamente el 10% del peso total de la mezcla.
- En la mezcla mencionada anteriormente, el ácido linoleico está contenido en una cantidad comprendida entre el 0,2% y el 40% en peso, preferiblemente entre el 8% y el 20% en peso, y más preferiblemente hasta aproximadamente el 15% del peso total de la mezcla.
- 15 En la mezcla mencionada anteriormente, el ácido alfa-linolénico está contenido en una cantidad comprendida entre el 0,2% y el 38% en peso, preferiblemente entre el 2% y el 15% en peso, y más preferiblemente hasta aproximadamente el 10% del peso total de la mezcla.
- 20 Cuando la mezcla mencionada anteriormente contiene ocho ácidos grasos, el ácido palmítico está contenido en la mezcla mencionada anteriormente en una cantidad comprendida entre el 0,2% y el 48% en peso, preferiblemente entre el 20% y el 38% en peso, y más preferiblemente hasta aproximadamente el 30% del peso total de la mezcla.
- En la mezcla mencionada anteriormente, el ácido oleico está contenido en una cantidad comprendida entre el 0,2% y el 38% en peso, preferiblemente entre el 10% y el 15% en peso, y más preferiblemente hasta aproximadamente el 12% del peso total de la mezcla.
- 25 En la mezcla mencionada anteriormente, el ácido esteárico está contenido en una cantidad comprendida entre el 0,2% y el 42% en peso, preferiblemente entre el 8% y el 15% en peso, y más preferiblemente hasta aproximadamente el 12% del peso total de la mezcla.
- En la mezcla mencionada anteriormente, el ácido linoleico está contenido en una cantidad comprendida entre el 0,2% y el 40% en peso, preferiblemente entre el 10% y el 20% en peso, y más preferiblemente hasta aproximadamente el 18% del peso total de la mezcla.
- 30 En la mezcla mencionada anteriormente, el ácido alfa-linolénico está contenido en una cantidad comprendida entre el 0,2% y el 38% en peso, preferiblemente entre el 10% y el 15% en peso, y más preferiblemente hasta aproximadamente el 12% del peso total de la mezcla.
- En la mezcla mencionada anteriormente, el ácido gamma-linoleico está contenido en una cantidad comprendida entre el 0,2% y el 30% en peso, preferiblemente entre el 1% y el 3% en peso, y más preferiblemente hasta aproximadamente el 2% del peso total de la mezcla.
- 35 En la mezcla mencionada anteriormente, el ácido eicosapentaenoico está contenido en una cantidad comprendida entre el 0,2% y el 25% en peso, preferiblemente entre el 5% y el 10% en peso, y más preferiblemente hasta aproximadamente el 8% del peso total de la mezcla.
- 40 En la mezcla mencionada anteriormente, el ácido docosahexaenoico está contenido en una cantidad comprendida entre el 0,2% y el 25% en peso, preferiblemente entre el 4% y el 10% en peso, y más preferiblemente hasta aproximadamente el 6% del peso total de la mezcla.
- Cuando la mezcla mencionada anteriormente contiene nueve ácidos grasos, el ácido palmítico está contenido en la mezcla mencionada anteriormente en una cantidad comprendida entre el 0,2% y el 48% en peso, preferiblemente entre el 20% y el 30% en peso, y más preferiblemente hasta aproximadamente el 25% del peso total de la mezcla.
- 45 En la mezcla mencionada anteriormente, el ácido oleico está contenido en una cantidad comprendida entre el 0,2% y el 38% en peso, preferiblemente entre el 10% y el 16% en peso, y más preferiblemente hasta aproximadamente el 14% del peso total de la mezcla.
- En la mezcla mencionada anteriormente, el ácido esteárico está contenido en una cantidad comprendida entre el 0,2% y el 42% en peso, preferiblemente entre el 8% y el 15% en peso, y más preferiblemente hasta aproximadamente el 12% del peso total de la mezcla.
- 50

En la mezcla mencionada anteriormente, el ácido linoleico está contenido en una cantidad comprendida entre el 0,2% y el 40% en peso, preferiblemente entre el 15% y el 25% en peso, y más preferiblemente hasta aproximadamente el 20% del peso total de la mezcla.

5 En la mezcla mencionada anteriormente, el ácido alfa-linolénico está contenido en una cantidad comprendida entre el 0,2% y el 38% en peso, preferiblemente entre el 5% y el 10% en peso, y más preferiblemente hasta aproximadamente el 8% del peso total de la mezcla.

En la mezcla mencionada anteriormente, el ácido gamma-linoleico está contenido en una cantidad comprendida entre el 0,2% y el 30% en peso, preferiblemente entre el 2% y el 6% en peso, y más preferiblemente hasta aproximadamente el 4% del peso total de la mezcla.

10 En la mezcla mencionada anteriormente, el ácido eicosapentaenoico está contenido en una cantidad comprendida entre el 0,2% y el 25% en peso, preferiblemente entre el 5% y el 10% en peso, y más preferiblemente hasta aproximadamente el 7% del peso total de la mezcla.

15 En la mezcla mencionada anteriormente, el ácido docosahexaenoico está contenido en una cantidad comprendida entre el 0,2% y el 25% en peso, preferiblemente entre el 5% y el 10% en peso, y más preferiblemente hasta aproximadamente el 8% del peso total de la mezcla.

En la mezcla mencionada anteriormente, el ácido azelaico está contenido en una cantidad comprendida entre el 0,2% y el 40% en peso, preferiblemente entre el 1% y el 3% en peso, y más preferiblemente hasta aproximadamente el 2% del peso total de la mezcla.

20 Según una descripción, cuando la mezcla contiene cuatro ácidos grasos, tales como ácido palmítico, ácido oleico, ácido esteárico y ácido linoleico, están presentes en una razón en peso de aproximadamente 1,6:1:1,28:0,12, respectivamente.

Según una descripción preferida, cuando la mezcla contiene cinco ácidos grasos, tales como ácido palmítico, ácido oleico, ácido esteárico, ácido linoleico y ácido alfa-linolénico, están presentes en una razón en peso de aproximadamente 1,9:1,35:0,5:0,75:0,5, respectivamente.

25 Según una descripción preferida, cuando la mezcla según esta invención contiene ocho ácidos grasos, tales como ácido palmítico, ácido oleico, ácido esteárico, ácido linoleico, ácido alfa-linolénico, ácido gamma-linolénico, ácido eicosapentaenoico y ácido docosahexaenoico, están presentes en una razón en peso de aproximadamente 2,4:0,96:0,96:1,44:0,96:0,16:0,64:0,48 respectivamente.

30 Según una descripción preferida adicional, cuando la mezcla según esta invención contiene nueve ácidos grasos, tales como ácido palmítico, ácido oleico, ácido esteárico, ácido linoleico, ácido alfa-linolénico, ácido gamma-linolénico, ácido eicosapentaenoico, ácido docosahexaenoico y ácido azelaico, están preferiblemente presentes en una razón en peso de aproximadamente 2,25:1,26:1,08:1,80:0,72:0,36:0,63:0,72:0,18 respectivamente.

35 Sorprendentemente, se ha observado que estableciendo un conjunto de los ácidos grasos mencionados anteriormente, en particular de cuatro, cinco, ocho o nueve ácidos grasos según esta invención, ha sido posible establecer el control de las células involucradas en procesos inflamatorios, tales como mastocitos, macrófagos, basófilos y linfocitos.

Este sistema de administración de los ácidos grasos tiene dos ventajas importantes:

1) una respuesta más rápida y reactiva a la hiperestimulación inducida por el agente inflamatorio: los lípidos de membrana en la célula no disminuyen, dando así como resultado dispersión temporal;

40 2) ahorro de energía significativo: la célula no tiene que usar energía para recuperar lípidos de las membranas y luego reemplazarlos.

De hecho, se ha observado que, proporcionando el conjunto de ácidos grasos según esta invención, se obtiene un control mejorado del proceso inflamatorio y se restauran en tiempos más cortos las condiciones fisiológicas y las condiciones normales del microentorno involucrado, todo con respecto a la técnica anterior.

45 Una descripción adicional es una composición farmacéutica, cosmética y/o dietética que comprende la mezcla anterior y al menos un excipiente fisiológicamente aceptable.

Un excipiente fisiológicamente aceptable es según esta invención cualquier excipiente conocido por una persona experta en la técnica que sea útil en la preparación de composiciones farmacéuticas y/o cosméticas.

50 Los otros excipientes generalmente se clasifican según la función que realizan en la composición final. Los excipientes adecuados preferibles según esta invención incluyen, por ejemplo, diluyentes, absorbentes, deslizantes, aglutinantes, lubricantes, tensioactivos, disgregantes, conservantes, antioxidantes o mezclas de los mismos.

Alternativamente, los excipientes pueden clasificarse según el grupo funcional presente en su estructura química, tales como azúcares, amidas, éteres, alcoholes y similares.

Un excipiente particularmente preferido es N-2-hidroxiethylpalmitamida.

5 Según una realización de esta invención, la composición mencionada anteriormente comprende una mezcla de al menos cinco ácidos grasos seleccionados de los siguientes: ácido palmítico, ácido oleico, ácido esteárico, ácido linoleico, ácido alfa-linolénico, ácido gamma-linolénico, ácido eicosapentaenoico (EPA), ácido docosahexaenoico (DHA), ácido azelaico y ácido mirístico, y N-2-hidroxiethylpalmitamida.

10 Según una realización de esta invención, el ácido palmítico está contenido en la composición en una cantidad comprendida entre el 5% y el 45% en peso; el ácido oleico está contenido en la composición en una cantidad comprendida entre el 2% y el 35% en peso; el ácido esteárico está contenido en la composición en una cantidad comprendida entre el 2% y el 35% en peso; el ácido linoleico está contenido en la composición en una cantidad comprendida entre el 1% y el 40% en peso; el ácido alfa-linolénico está contenido en la composición en una cantidad comprendida entre el 1% y el 25% en peso; el ácido gamma-linolénico está contenido en la composición en una cantidad comprendida entre el 0,5% y el 10% en peso; el ácido eicosapentaenoico está contenido en la composición en una cantidad comprendida entre el 1% y el 20% en peso; el ácido docosahexaenoico está contenido en la composición en una cantidad comprendida entre el 1% y el 25% en peso; el ácido azelaico está contenido en la composición en una cantidad comprendida entre el 0,5% y el 10% en peso; el ácido mirístico está contenido en la composición en una cantidad comprendida entre el 0,05% y el 1% en peso; los porcentajes mencionados anteriormente son cantidades en peso expresadas con respecto al peso total de la composición.

20 Según una descripción, dicha composición contiene una mezcla que comprende cuatro ácidos grasos y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

Cuando la mezcla comprende cuatro ácidos grasos, el ácido palmítico está contenido en la composición en una cantidad comprendida entre el 2% y el 40% en peso, preferiblemente entre el 5% y el 25% en peso, y más preferiblemente hasta aproximadamente el 6% del peso total de la composición.

25 En la composición mencionada anteriormente, el ácido oleico está contenido en una cantidad comprendida entre el 1% y el 35% en peso, preferiblemente entre el 2% y el 10% en peso, y más preferiblemente hasta aproximadamente el 4% del peso total de la composición.

30 En la composición mencionada anteriormente, el ácido esteárico está contenido en una cantidad comprendida entre el 0,5% y el 15% en peso, preferiblemente entre el 2% y el 10% en peso, y más preferiblemente hasta aproximadamente el 5% del peso total de la composición.

En la composición mencionada anteriormente, el ácido linoleico está contenido en una cantidad comprendida entre el 0,5% y el 5% en peso, preferiblemente entre el 1% y el 3% en peso, y más preferiblemente hasta aproximadamente el 1% del peso total de la composición.

35 Según una realización preferida, dicha composición contiene una mezcla de cinco ácidos grasos, tales como ácido palmítico, ácido oleico, ácido esteárico, ácido linoleico y ácido alfa linolénico.

Cuando la mezcla de la presente invención comprende cinco ácidos grasos, el ácido palmítico está contenido en la composición en una cantidad comprendida entre el 1% y el 20% en peso, preferiblemente entre el 3% y el 10% en peso, y más preferiblemente hasta aproximadamente el 6% del peso total de la composición.

40 En la composición mencionada anteriormente, el ácido oleico está contenido en una cantidad comprendida entre el 1% y el 15% en peso, preferiblemente entre el 2% y el 8% en peso, y más preferiblemente hasta aproximadamente el 4,5% del peso total de la composición.

En la composición mencionada anteriormente, el ácido esteárico está contenido en una cantidad comprendida entre el 0,5% y el 7%, preferiblemente entre el 1% y el 5% en peso, y más preferiblemente hasta aproximadamente el 2% del peso total de la composición.

45 En la composición mencionada anteriormente, el ácido linoleico está contenido en una cantidad comprendida entre el 0,5% y el 10% en peso, preferiblemente entre el 1% y el 5% en peso, y más preferiblemente hasta aproximadamente el 2,5% del peso total de la composición.

50 En la composición mencionada anteriormente, el ácido alfa-linolénico está contenido en una cantidad comprendida entre el 0,5% y el 10% en peso, preferiblemente entre el 1% y el 6% en peso, y más preferiblemente hasta aproximadamente el 2% del peso total de la composición.

Según una realización preferida de esta invención, dicha composición contiene una mezcla que comprende ocho ácidos grasos y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

Quando la mezcla de la presente invención comprende ocho ácidos grasos, el ácido palmítico está contenido en la composición en una cantidad comprendida entre el 1% y el 30% en peso, preferiblemente entre el 3% y el 10% en peso, y más preferiblemente hasta aproximadamente el 6% del peso total de la composición.

5 En la composición mencionada anteriormente, el ácido oleico está contenido en una cantidad comprendida entre el 1% y el 25% en peso, preferiblemente entre el 5% y el 15% en peso, y más preferiblemente hasta aproximadamente el 10% del peso total de la composición.

En la composición mencionada anteriormente, el ácido esteárico está contenido en una cantidad comprendida entre el 1% y el 25% en peso, preferiblemente entre el 5% y el 15% en peso, y más preferiblemente hasta aproximadamente el 10% del peso total de la composición.

10 En la composición mencionada anteriormente, el ácido linoleico está contenido en una cantidad comprendida entre el 0,2% y el 10% en peso, preferiblemente entre el 0,7% y el 5% en peso, y más preferiblemente hasta aproximadamente el 1% del peso total de la composición.

15 En la composición mencionada anteriormente, el ácido alfa-linolénico está contenido en una cantidad comprendida entre el 0,2% y el 6% en peso, preferiblemente entre el 0,5% y el 4% en peso, y más preferiblemente hasta aproximadamente el 1% del peso total de la composición.

En la composición mencionada anteriormente, el ácido gamma-linolénico está contenido en una cantidad comprendida entre el 0,04% y el 3% en peso, preferiblemente entre el 0,2% y el 1% en peso, y más preferiblemente hasta aproximadamente el 0,5% del peso total de la composición.

20 En la composición mencionada anteriormente, el ácido eicosapentaenoico está contenido en una cantidad comprendida entre el 1% y el 15% en peso, preferiblemente entre el 2% y el 6% en peso, y más preferiblemente hasta aproximadamente el 3% del peso total de la composición.

En la composición mencionada anteriormente, el ácido docosahexaenoico está contenido en una cantidad comprendida entre el 0,5% y el 7% en peso, preferiblemente entre el 1% y el 4% en peso, y más preferiblemente hasta aproximadamente el 2% del peso total de la composición.

25 En una realización preferida adicional de esta invención, dicha composición contiene una mezcla que comprende nueve ácidos grasos y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

Quando la mezcla de la presente invención comprende nueve ácidos grasos, el ácido palmítico está contenido en la composición en una cantidad comprendida entre el 1% y el 30% en peso, preferiblemente entre el 3% y el 10% en peso, y más preferiblemente hasta aproximadamente el 7% del peso total de la composición.

30 En la composición mencionada anteriormente, el ácido oleico está contenido en una cantidad comprendida entre el 1% y el 25% en peso, preferiblemente entre el 5% y el 15% en peso, y más preferiblemente hasta aproximadamente el 10% del peso total de la composición.

35 En la composición mencionada anteriormente, el ácido esteárico está contenido en una cantidad comprendida entre el 1% y el 25% en peso, preferiblemente entre el 5% y el 15% en peso, y más preferiblemente hasta aproximadamente el 10% del peso total de la composición.

En la composición mencionada anteriormente, el ácido linoleico está contenido en una cantidad comprendida entre el 0,2% y el 6% en peso, preferiblemente entre el 0,5% y el 3% en peso, y más preferiblemente hasta aproximadamente el 1% del peso total de la composición.

40 En la composición mencionada anteriormente, el ácido alfa-linolénico está contenido en una cantidad comprendida entre el 0,2% y el 6% en peso, preferiblemente entre el 0,5% y el 4% en peso, y más preferiblemente hasta aproximadamente el 1% del peso total de la composición.

En la composición mencionada anteriormente, el ácido gamma-linolénico está contenido en una cantidad comprendida entre el 0,04% y el 3% en peso, preferiblemente entre el 0,2% y el 1% en peso, y más preferiblemente hasta aproximadamente el 0,5% del peso total de la composición.

45 En la composición mencionada anteriormente, el ácido eicosapentaenoico está contenido en una cantidad comprendida entre el 1% y el 15% en peso, preferiblemente entre el 2% y el 6% en peso, y más preferiblemente hasta aproximadamente el 3% del peso total de la composición.

50 En la composición mencionada anteriormente, el ácido docosahexaenoico está contenido en una cantidad comprendida entre el 0,5% y el 7% en peso, preferiblemente entre el 1% y el 4% en peso, y más preferiblemente hasta aproximadamente el 2% del peso total de la composición.

En la composición mencionada anteriormente, el ácido azelaico está contenido en una cantidad comprendida entre el 0,05% y el 2% en peso, preferiblemente entre el 0,2% y el 1% en peso, y más preferiblemente hasta aproximadamente el 0,5% del peso total de la composición.

5 La composición de esta invención puede formularse en una forma adecuada para administración oral, tópica, rectal, vaginal, oftálmica o parenteral.

En una realización preferida de esta invención, dicha forma oral puede seleccionarse de comprimidos, cápsulas, gránulos, cápsulas oleosas, soluciones, suspensiones, vehículos o soluciones nebulizadoras, y más preferiblemente se selecciona de cápsulas, comprimidos o disoluciones.

La cápsula puede ser una cápsula de gelatina blanda, una cápsula dura o una cápsula que contiene gránulos.

10 Según una realización preferida adicional de esta invención, dicha forma tópica puede seleccionarse de crema, pomada, gel, disolución, suspensión, pulverización, parche o polvo granular liofilizado, más preferiblemente se selecciona de crema, gel, pulverización, pomada y polvo granular liofilizado.

15 Según una realización preferida adicional de esta invención, dicha forma adecuada para administración vaginal es un óvulo, un catéter, un gel o una disolución para uso endocavitario. Según una realización preferida adicional de esta invención, dicha forma adecuada para administración rectal es un supositorio, un enema o una disolución para uso endocavitario.

Según una realización preferida adicional de esta invención, dicha forma adecuada para administración oftálmica es gotas para los ojos, un lavado, una crema o una pomada.

El término "lavado" se entiende como una disolución de lavado de ojos.

20 Según otra realización preferida de esta invención, dicha forma adecuada para administración parenteral puede ser o bien una disolución tampón acuosa o bien una suspensión oleosa, y preferiblemente dicha forma parenteral es una suspensión oleosa.

Según una realización preferida adicional de esta invención, la composición mencionada anteriormente es una composición dermocosmética, una sustancia farmacéutica, un suplemento dietético o un fármaco.

25 La mezcla de ácidos grasos en la presente invención está contenida preferiblemente en las formulaciones mencionadas anteriormente en una cantidad que varía desde el 10% hasta el 60% en peso, y preferiblemente desde el 15% hasta el 45% del peso total de la formulación.

Según una descripción, la composición de la presente invención que contiene una mezcla de cuatro ácidos grasos se formula preferiblemente en forma tópica.

30 Según una realización de esta invención, la composición de la presente invención que contiene una mezcla de cinco ácidos grasos se formula preferiblemente en forma tópica o en forma oral.

Según una realización de esta invención, la composición de la presente invención que contiene una mezcla de ocho ácidos grasos se formula preferiblemente en forma oral, y más preferiblemente en forma de comprimido o en forma de suspensión.

35 Dicha composición que contiene una mezcla de ocho ácidos grasos se formula preferiblemente en forma parenteral o en forma rectal.

Según una realización adicional de esta invención, la composición de la invención que contiene una mezcla de nueve ácidos grasos se formula en forma oral, más preferiblemente en forma de comprimido o forma de suspensión, o en forma tópica, y más preferiblemente en forma de crema, forma de gel o forma de pomada.

40 En la forma oral mencionada anteriormente que contiene dicha mezcla de nueve ácidos grasos, el ácido azelaico está contenido en una cantidad comprendida entre el 0,04% y el 0,5% en peso, preferiblemente entre el 0,08% y el 0,4% en peso, y más preferiblemente hasta aproximadamente el 0,2%.

45 En la forma tópica mencionada anteriormente que contiene dicha mezcla de nueve ácidos grasos, el ácido azelaico está contenido en una cantidad comprendida entre el 0,05% y el 2% en peso, preferiblemente entre el 0,2% y el 1% en peso, y más preferiblemente hasta aproximadamente el 0,5%.

Según la invención, la composición de la presente invención puede administrarse a humanos, destinada a comprender tanto a adultos como a la "población pediátrica" (donde el término "población pediátrica" se entiende como la parte de la población que va desde el nacimiento hasta los dieciocho años de edad), y a animales.

50 Un objeto adicional de la presente invención es una mezcla que contiene al menos cinco ácidos grasos y/o una composición que contiene dicha mezcla, para su uso en el tratamiento de patologías inflamatorias.

Las patologías inflamatorias mencionadas son de la variedad aguda o crónica e incluyen: patologías dermatológicas, tales como dermatitis atópica, dermatomiositis, esclerodermia, psoriasis, polimiositis, pénfigo, epidermolisis ampollosa penfigoide; patologías oftálmicas, tales como el síndrome de Sjogren, oftalmia simpática, uveítis y uveo-retinitis; patologías de la mucosa, tales como inflamación de las membranas mucosas gastrointestinales (enfermedad de Crohn) e inflamación de la mucosa oral y genital; patologías articulares y conectivas, tales como artritis reumatoide, artritis psoriásica, artritis por lupus eritematoso, y lupus eritematoso discoide y sistémico; inflamaciones patológicas crónicas, tales como dermatitis solar crónica, asma y fibrosis intestinal y pulmonar, y artritis crónica, patologías degenerativas que afectan al sistema nervioso periférico (SNP) y al sistema nervioso central (SNC), tales como esclerosis múltiple, patologías neurodegenerativas autoinmunes, patologías neurodegenerativas no autoinmunes, procesos inflamatorios vinculados con el SNC, tales como la enfermedad de Parkinson, demencia senil, meningitis bacteriana, infección por VIH y lesiones traumáticas, y patologías del SNP, tales como radiculopatía provocada por inflamación; patologías del sistema nervioso central y periférico donde los procesos inflamatorios siguen a la primera agresión isquémica, tal como neuropatías debidas a compresión, así como neuropatías traumáticas, derrames cerebrales y traumas craneales; enfermedades cardiológicas derivadas de fenómenos de perfusión como consecuencia de lesiones isquémicas; patologías inflamatorias asociadas con fibrosis, tales como conjuntivitis alérgica, conjuntivitis papilar gigante, alergias alimentarias, cicatrización anormal, tal como cicatriz hipertrófica, queloides y penfigoide cicatricial ocular; patologías en las que la función renal se altera como resultado de la inflamación de los riñones. Con respecto a la administración a animales de la composición de la presente invención, la acción antiinflamatoria local y/o sistémica ejercida por el conjunto de ácidos grasos es útil en el tratamiento de la inflamación neurogénica (por ejemplo, compresión de la médula espinal, lesiones nerviosas en perros), patologías articulares y conectivas tales como la laminitis en caballos (donde no es posible el uso de fármacos de cortisona), artritis, patologías respiratorias, inflamación oftálmica, queratoconjuntivitis seca y manifestaciones inflamatorias alérgicas, incluidas alergias alimentarias.

La composición de esta invención se administra preferiblemente diariamente, tanto a humanos como a animales, dentro de un intervalo de una a cuatro dosis al día.

Dicha dosis contiene preferiblemente de desde 0,1 hasta 50 mg de composición/kg del peso corporal del paciente, y más preferiblemente de desde 0,5 hasta 20 mg/kg del peso corporal del paciente. Según una realización preferida de la presente invención, dicha composición se administra durante al menos cuatro semanas.

### Parte experimental

#### 30 Ejemplos

Se prepararon las siguientes mezclas.

##### Ejemplo 1: (solo como referencia)

- Ácido eicosapentaenoico (EPA) que oscila entre el 0,5% y el 15%
- Ácido docosahexaenoico (DHA) que oscila entre el 0,5% y el 15%
- 35 - Ácido palmítico que oscila entre el 0,5% y el 35%
- Ácido oleico que oscila entre el 0,5% y el 35%
- Ácido esteárico que oscila entre el 0,5% y el 15%
- Ácido gamma-linolénico que oscila entre el 0,5% y el 15%
- Ácido alfa-linolénico que oscila entre el 0,5% y el 15%
- 40 - Ácido azelaico que oscila entre el 0,5% y el 35%
- Ácido linoleico que oscila entre el 0,5% y el 35%

##### Ejemplo 2: (solo como referencia)

- Ácido eicosapentaenoico (EPA) que oscila entre el 3% y el 10%
- Ácido docosahexaenoico (DHA) que oscila entre el 3% y el 10%
- 45 - Ácido palmítico que oscila entre el 10% y el 35%
- Ácido oleico que oscila entre el 0,5% y el 35%
- Ácido esteárico que oscila entre el 0,5% y el 9%

- Ácido gamma-linolénico que oscila entre el 0,5% y el 10%
- Ácido alfa-linolénico que oscila entre el 0,5% y el 10%
- Ácido azelaico que oscila entre el 0,5% y el 20%
- Ácido linoleico que oscila entre el 0,5% y el 35%

5 Ejemplo 3: (solo como referencia)

- Ácido eicosapentaenoico (EPA) que oscila entre el 0,5% y el 15%
- Ácido docosahexaenoico (DHA) que oscila entre el 0,5% y el 15%
- Ácido palmítico que oscila entre el 1% y el 35
- Ácido oleico que oscila entre el 0,6% y el 35%

10

- Ácido esteárico que oscila entre el 0,3% y el 15%
- Ácido gamma-linolénico que oscila entre el 0,5% y el 20%
- Ácido alfa-linolénico que oscila entre el 0,5% y el 35%
- Ácido azelaico que oscila entre el 0,5% y el 35%
- Ácido linoleico que oscila entre el 0,5% y el 35%

15 Ejemplo 4: (solo como referencia)

- Ácido eicosapentaenoico (EPA) que oscila entre el 2% y el 12%
- Ácido docosahexaenoico (DHA) que oscila entre el 2% y el 12%
- Ácido palmítico que oscila entre el 10% y el 45%
- Ácido oleico que oscila entre el 1% y el 35%

20

- Ácido esteárico que oscila entre el 0,5% y el 25%
- Ácido gamma-linolénico que oscila entre el 0,5% y el 10%
- Ácido alfa-linolénico que oscila entre el 0,5% y el 30%
- Ácido azelaico que oscila entre el 0,5% y el 20%
- Ácido linoleico que oscila entre el 3% y el 35%

25 Ejemplo 5: (solo como referencia)

- Ácido eicosapentaenoico (EPA) que oscila entre el 35% y el 24%
- Ácido docosahexaenoico (DHA) que oscila entre el 3% y el 24%
- Ácido palmítico que oscila entre el 10% y el 40%
- Ácido oleico que oscila entre el 15% y el 35%

30

- Ácido esteárico que oscila entre el 0,5% y el 40%
- Ácido gamma-linolénico que oscila entre el 0,5% y el 25%
- Ácido alfa-linolénico que oscila entre el 0,5% y el 20%
- Ácido azelaico que oscila entre el 0,5% y el 25%
- Ácido linoleico que oscila entre el 0,5% y el 35%

35 Ejemplo 6: (solo como referencia)

- Ácido eicosapentaenoico (EPA) que oscila entre el 1% y el 20%
  - Ácido docosahexaenoico (DHA) que oscila entre el 3% y el 12%
  - Ácido palmítico que oscila entre el 1% y el 30%
  - Ácido oleico que oscila entre el 2% y el 15%
- 5
- Ácido esteárico que oscila entre el 0,5% y el 15%
  - Ácido gamma-linolénico que oscila entre el 0,5% y el 15%
  - Ácido alfa-linolénico que oscila entre el 0,5% y el 20%
  - Ácido azelaico que oscila entre el 0,5% y el 10%
  - Ácido linoleico que oscila entre el 5% y el 35%
- 10 Ejemplo 7 (solo como referencia)
- Ácido eicosapentaenoico (EPA) que oscila entre el 0,5% y el 12%
  - Ácido docosahexaenoico (DHA) que oscila entre el 0,5% y el 12%
  - Ácido palmítico que oscila entre el 0,5% y el 45%
  - Ácido oleico que oscila entre el 10% y el 35%
- 15
- Ácido esteárico que oscila entre el 0,5% y el 10%
  - Ácido gamma-linolénico que oscila entre el 0,5% y el 20%
  - Ácido alfa-linolénico que oscila entre el 0,5% y el 20%
  - Ácido azelaico que oscila entre el 0,5% y el 10%
  - Ácido linoleico que oscila entre el 0,5% y el 15%
- 20 Ejemplo 8: (solo como referencia)
- Ácido eicosapentaenoico (EPA) que oscila entre el 1% y el 12%
  - Ácido docosahexaenoico (DHA) que oscila entre el 1% y el 12%
  - Ácido palmítico que oscila entre el 0,5% y el 25%
  - Ácido oleico que oscila entre el 10% y el 35%.
- 25
- Ácido esteárico que oscila entre el 0,5% y el 10%
  - Ácido gamma-linolénico que oscila entre el 0,5% y el 15%
  - Ácido alfa-linolénico que oscila entre el 0,5% y el 15%
  - Ácido azelaico que oscila entre el 0,5% y el 10%
  - Ácido linoleico que oscila entre el 2% y el 35%
- 30 Ejemplo 9: (solo como referencia)
- Ácido palmítico 14%
  - Ácido linoleico 12%
  - Ácido oleico 15%
  - Ácido esteárico 14%

- Ácido alfa-linolénico 15%
- Ácido gamma-linolénico 0,5%
- Ácido azelaico 0,5%
- Ácido eicosapentaenoico (EPA) 14%
- Ácido docosahexaenoico (DHA) 15%

Ejemplo 10

- Ácido palmítico 20%
- Ácido linoleico 10%
- Ácido oleico 15%
- Ácido esteárico 7%
- Ácido alfa-linolénico 10%
- N-2-hidroxietilpalmitamida (PEA) 38%

Evaluación *in vitro* de la actividad antiinflamatoria

Se ha evaluado la actividad antiinflamatoria de la mezcla que contiene nueve ácidos grasos (véase el ejemplo 9), identificada como AS66, mediante dos pruebas experimentales:

- 5 1. Prueba de vitalidad MTT para identificar la dosis no citotóxica más alta
2. Valoración de la capacidad de la mezcla de reducir la liberación de mediadores proinflamatorios (IL-6 e IL-8) mediante una línea celular de macrófagos humanos previamente sensibilizados con LPS

Diseño experimental

10 *In vivo*, la reacción inflamatoria es el resultado de un proceso complejo determinado por la respuesta de diferentes poblaciones celulares en las diferentes regiones del cuerpo humano. Simplificando, pueden distinguirse las siguientes fases: agresión externa (bacteriana u otra) acompañada o no de una lesión tisular real, liberación de mediadores proinflamatorios, llamada de células competentes, producción de anticuerpos, eliminación de antígenos, activación del proceso de reparación y curación.

15 Los monocitos y los macrófagos son actores críticos en las respuestas inmunitarias tanto naturales como adquiridas. Los macrófagos existen en prácticamente todos los tejidos del cuerpo y muestran una notable heterogeneidad morfológica en diferentes tejidos. Los monocitos son los precursores de transmisión sanguínea de los macrófagos.

En caso de infección, daño tisular u otra lesión, se reclutan un gran número de monocitos del torrente sanguíneo al sitio de la agresión y se diferencian en el fenotipo de macrófagos apropiado (véase la figura 2).

20 Los macrófagos también son moduladores importantes de una variedad de respuestas inmunitarias, a través de la secreción de una gran variedad de citocinas y quimiocinas. Entre los mediadores producidos por monocitos/macrófagos, en este estudio se eligieron una citocina (Interleucina 6) y una quimiocina (Interleucina 8).

25 Se ha elegido interleucina 8 (IL-8) por su papel clave en la respuesta inflamatoria primaria. Se produce constitutivamente por diferentes poblaciones celulares (monocitos/macrófagos, linfocitos T, células endoteliales, neutrófilos, queratinocitos, fibroblastos y condrocitos), y esto le proporciona un papel importante en las operaciones de "vigilancia" y "emergencia" en los tejidos.

Se eligió interleucina 6 (IL-6) porque es típica de la fase tardía de la reacción inflamatoria.

La IL-6 es una glicoproteína de 26 kDa que no se produce constitutivamente, se sintetiza en respuesta a otros mediadores proinflamatorios, concretamente "precoz" tal como IL-8, IL-1 $\alpha$  y TNF, también llamadas citocinas primarias de la respuesta inflamatoria.

30 La IL-6 tiene un papel tanto en la reacción inmunitaria innata (no específica) como en la humoral (específica). En la inmunidad innata, estimula la producción de proteínas de fase aguda por las células hepáticas, que son responsables

de la aparición de síntomas de reacción alérgica sistémica, y estimula la maduración de neutrófilos a partir de precursores inmaduros en la médula ósea. En la respuesta humoral específica, estimula la proliferación de clones de linfocitos B que producen anticuerpos específicos para el alérgeno que desencadenó la reacción.

#### Modelo celular

- 5 Dado el papel central de los monocitos/macrófagos en la respuesta inmunitaria mediada por células y su papel en la modulación de la respuesta inflamatoria en este estudio, se seleccionó una línea celular humana de monocitos llamada THP-1 (leucemia monocítica aguda humana). Estas células tienen receptores Fc y C3b, son fagocíticas y crecen en suspensión que no se adhiere al matraz de cultivo.

- 10 Las células se compraron del Istituto Zooprofilattico della Lombardia ed Emilia Romagna (instalación de Brescia - Italia) y están certificadas libres de contaminaciones bacterianas y micoplasma.

#### Materiales y métodos

La reacción inflamatoria en células THP-1 se indujo al exponerlas a una disolución de lipopolisacárido (LPS), un agente inflamatorio conocido extraído de *E. coli*, un microorganismo Gram, a una concentración de 1ug/ml durante dos horas.

- 15
- o Medio de cultivo: RPMI 1640, suplementado con glutamina 2 mM, 10% de suero de ternera fetal complementado, aminoácidos no esenciales, 2-mercaptoetanol (0,05 mM) y una mezcla de antibióticos de penicilina 2000 UI/ml, estreptomycin 1000 UI/ml, Fungizone 2ug/ml (Euroclone).
  - o Disolución madre MTT: 5 mg/ml en agua. (Sigma Aldrich)
  - o Disolución de trabajo MTT: 1 mg/ml en RPMI 1640
  - o Tampón de recubrimiento: solución salina de tampón fosfato (PBS)
  - 20 o Tampón de ensayo: PBS con albúmina de suero bovino (BSA) al 4%
  - o Tampón de lavado: Tris 50 mM, Tween 20 al 0,2%
  - o Disolución de sustrato TMB
  - o Disolución de parada: H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,18 M

#### 1. Identificación de la dosis no citotóxica más alta

- 25 En general, la primera elección de dosis no citotóxica es la dosis a la cual el % residual de viabilidad celular no difiere más del 15% de la viabilidad del control negativo.

#### Día 1: Siembra de células

- 30 Después de verificar la vitalidad de las células en cultivo, se recogieron y centrifugaron las mismas (10 minutos a 900 rpm), se resuspendió el sedimento en un volumen adecuado de RPMI 1640 y se contaron las células con un contador electrónico de células (Scepter - Millipore). Posteriormente, se preparó una suspensión celular a una densidad de 400.000 células/ml. Esta suspensión se distribuyó en placas de 24 micropocillos a 2:1 ml de suspensión por pocillo (400.000 células/pocillo). Luego, se colocaron las placas en una incubadora a 37°C y se enriqueció la atmósfera con el 5% de CO<sub>2</sub> hasta el día siguiente (20-22 horas).

#### Día 2:

- 35 Preparación de la muestra:

Se pesó 1 g de muestra (mezcla del ejemplo 9) y se resuspendió en un volumen de etanol suficiente para obtener una concentración final de 5 mg/ml. A partir de esta solución madre se prepararon una serie de diluciones (2x) de desde 2 mg/ml hasta 0,312 mg/ml en medio RPMI con el 5% de FBS.

- 40 Inoculación de la muestra: después de verificar el estado de salud y la densidad de las células sembradas el día 1, se recogió de cada pocillo un volumen de 0,5 ml de medio de cultivo que más tarde se reemplazó con el mismo volumen de diluciones de muestra 2x preparadas previamente. Se inocularon 6 dosis diferentes de la muestra: a partir de 1 mg/ml y se dispusieron 5 diluciones dobles adicionales de la disolución madre en medio con el 5% de FBS. Luego se colocaron las placas en una incubadora a 37°C y se enriqueció la atmósfera con el 5% de CO<sub>2</sub> durante 20-22 horas.

El control negativo consiste en células expuestas solo a medio de cultivo que representa el 100% de la vitalidad.

- 45 Día 3:

Después de verificar el estado de salud y la densidad de las células expuestas a la muestra, se realizó la prueba de vitalidad MTT.

#### Prueba de vitalidad MTT

5 MTT es una sal de tetrazolio que, en su forma oxidada, es soluble y de color amarillo. Se convierte a su forma reducida de sal de formazán mediante deshidrogenasas citoplasmáticas y mitocondriales (succinato deshidrogenasas), en esta forma la sal es insoluble y precipita para formar cristales de color azul violáceo. La adición de isopropanol solubiliza los cristales, formando una disolución violeta cuya fuerza, evaluada con una lectura del espectrofotómetro de 540 nm  $\pm$  30, es proporcional a la cantidad de células vivas presentes en el momento en que se realiza la prueba.

Se retiró el inóculo y se reemplazó con el mismo volumen de la solución de trabajo MTT.

10 Se colocaron las placas en una incubadora durante tres horas. Al final del período de incubación, la sal se ha eliminado y reemplazado con el mismo volumen de isopropanol. Luego, después de 5 minutos de agitación, se leyó la densidad óptica a 570 nm ( $\pm$  30 nm) con un espectrofotómetro (Victor X5-Perkin-Elmer).

Del análisis de los resultados obtenidos se seleccionaron concentraciones de muestra de 0,1, 0,06 y 0,03 mg/ml para la prueba antiinflamatoria.

15 2. Evaluación de la actividad antiinflamatoria

#### Día 1: Siembra de células

Después de verificar la vitalidad de las células en cultivo, las mismas se recogieron y centrifugaron (10 minutos a 900 rpm), entonces se resuspendió el sedimento en un volumen adecuado de RPMI 1640 y las células se contaron con un contador electrónico de células (Scepter - Millipore). Posteriormente, se preparó una suspensión celular a una densidad de 400.000 células/ml. Esta suspensión se distribuyó en placas de Petri: 3 ml de suspensión celular/ml (1.200.000 células/placa). Luego, las placas se colocaron en una incubadora a 37°C y se enriqueció la atmósfera con el 5% de CO<sub>2</sub> hasta el día siguiente (20-22 horas).

#### Día 2:

##### Preparación de muestra:

25 Se pesó 1 g de polvo (mezcla del ejemplo 9) y se resuspendió en un volumen de etanol suficiente para obtener una concentración final de 5 mg/ml. A partir de esta solución madre se prepararon tres diluciones (2x): 0,2, 0,12 y 0,06 mg/ml en medio RPMI con el 5% de FBS.

##### Control de calidad (CC):

30 Se representó el CC mediante una disolución de Locoidon al 0,1% a 1 mg/ml, un producto antiinflamatorio conocido que contiene cortisol. La disolución se preparó en medio RPMI 1640 con el 5% de FBS.

##### Control positivo

Se representó el control positivo mediante células expuestas a la disolución de LPS 1  $\mu$ g/ml.

##### Inducción de la reacción inflamatoria:

35 Después de una noche de cultivo, se retiraron las placas y se reemplazó aproximadamente la mitad del medio de cultivo con el mismo volumen de la disolución de LPS 2  $\mu$ g/ml (concentración final 1  $\mu$ g/ml). Se continuó la exposición a LPS durante dos horas.

##### Inoculación de la muestra:

40 Al final del tiempo de incubación con LPS, después de verificar el estado de salud de las células, se reemplazó la disolución de LPS con el mismo volumen de las diferentes dosis de la muestra preparada previamente. Luego se colocaron las placas en una incubadora a 37°C y se enriqueció la atmósfera con el 5% de CO<sub>2</sub> durante 20-22 horas.

#### Día 3

Después de comprobar el estado de salud de las células tratadas, se recogió la suspensión celular en tubos de 1,5 ml y se centrifugó (1000 g durante 10 minutos). Luego, se llevó a cabo la prueba ELISA con el fin de evaluar las concentraciones de IL-6 e IL-8 en el medio de cultivo.

45 Finalmente, con el fin de excluir falsos positivos, es decir, para evitar clasificar como efecto antiinflamatorio la falta de células vivas y vitales, después de la centrifugación, las células se sometieron a la prueba de viabilidad celular MTT.

#### Resultados

## ES 2 779 851 T3

Porcentaje de supervivencia celular

$$\% \text{ de vitalidad} = \left[ \left( \frac{\text{DO}_{\text{muestra}}}{\text{DO}_{\text{control neg.}}} \right) \times 100 \right]$$

$$\% \text{ de inhibición de vitalidad} = (100 - \% \text{ de vitalidad})$$

D.O.: densidad óptica

5 D.O.<sub>muestra</sub>: densidad óptica obtenida a partir de células expuestas a la muestra

D.O.<sub>control negativo</sub>: densidad óptica obtenida a partir de células expuestas solo al medio de cultivo (100% de vitalidad)

Valoración de los niveles de IL-6 e IL-8 secretados en el medio de cultivo

### Eficacia antiinflamatoria

$$\% \text{ de inhibición de IL-8} = (100 - (\text{pg/ml de IL-8}_{\text{muestra}} / \text{pg/ml de IL-8}_{\text{cntrl pos}}) * 100)$$

10 pg/ml de IL-8<sub>muestra</sub>: pg/ml de IL-8 secretada por células expuestas a la disolución de LPS y luego a varias diluciones de muestra

pg/ml IL-8<sub>cntrl pos</sub>: pg/ml de IL-8 secretada por células expuestas solo a la disolución de LPS.

$$\% \text{ de inhibición de IL-6} = (100 - (\text{pg/ml de IL-6}_{\text{muestra}} / \text{pg/ml de IL-6}_{\text{cntrl pos}}) * 100)$$

15 pg/ml de IL-6<sub>muestra</sub>: pg/ml de IL-6 secretada por células expuestas a la disolución de LPS y luego a varias diluciones de muestra

pg/ml de IL-6<sub>cntrl pos</sub>: pg/ml de IL-8 secretada por células expuestas solo a la disolución de LPS.

Criterios de aceptación de la prueba

La prueba cumple con los criterios de aceptación del método si la ecuación de la línea de regresión de la curva patrón tiene un coeficiente de determinación (R<sup>2</sup>) ≥ 0,8 (entre 0,8 y 1).

20 El coeficiente de variación de los datos sin procesar debe ser <20%

Valor p (prueba de la T): <0,05

a) CI<sub>50</sub>

$$CI_{50} = 0,8 \text{ mg/ml (véase la figura 3)}$$

Tabla 1

Camp.AS66		
mg/ml	% de vitalidad	% de inhibición de vitalidad
1	45,97	54,03
0,5	53,05	46,95
0,25	85,19	14,81
0,125	86,66	13,34
0,0625	90,38	9,62
0,03125	98,53	1,47
0,015625	95,05	4,95
cntrl neg	100,00	0,00

25 CI<sub>50</sub> corresponde a la dosis de la muestra que destruye el 50% de las células en el período de incubación.

b) IL-8

Tabla 2

Curva patrón de IL8	
pg/ml	DO <sub>.AV</sub>

ES 2 779 851 T3

1000	1,230
500	0,821
250	0,471
125	0,252
62,5	0,125
31,25	0,0645
15,625	0,0175
0	0

La curva patrón de IL-8 y el porcentaje de inhibición de IL-8 se representan en la Figura 4.

Tabla 3

AS66 + LPS	pg/ml de IL8	% de inhib. de IL8
AS66 0,1 mg/ml	900,0769	16,116
AS66 0,06 mg/ml	860,2308	19,829
AS66 0,03 mg/ml	517,4615	51,774
Control neg.	0	0
Control pos.	1073	0
Control de calidad	663,4615	38,168

c) IL-6

Tabla 4

Curva patrón de IL6	
pg/ml	DO <sub>AV</sub>
1000	2,196
500	1,751
250	1,140
125	0,6805
62,5	0,3265
31,25	0,233
15,625	0,0925
0	0

5 La curva patrón de IL-6 y el porcentaje de inhibición de IL-6 se representan en la figura 5.

Tabla 5

AS66 + LPS	pg/ml de IL6	% de inhib. de IL6
AS66 0,1 mg/ml	270,5909	42,422
AS66 0,06 mg/ml	328,5909	30,080
AS66 0,03 mg/ml	156,5	66,699
Control neg.	0	100
Control pos.	469,9545	0
Control de calidad	0	100,000

Como se puede apreciar, ninguna de las dosis puestas a prueba mostró acción citotóxica que pueda distorsionar el resultado de la evaluación de la actividad antiinflamatoria de la muestra AS66 puesta a prueba (mezcla del ejemplo 9).

Todas las dosis de AS66 analizadas han demostrado ser capaces de inhibir la liberación de ambas citocinas analizadas.

5 Las pruebas realizadas han identificado una dosis eficaz máxima equivalente a 0,03 mg/ml: a esta concentración, la actividad antiinflamatoria de AS66 determina una inhibición de la liberación de IL-6 e IL-8 igual al 51% y 66,7% respectivamente.

En otras palabras, concentraciones menores de la mezcla según la presente invención conducen a una mayor actividad antiinflamatoria, en ausencia de efectos citotóxicos.

Las mismas dos pruebas experimentales se realizaron también en una composición que comprende una mezcla de cinco ácidos grasos y N-2-hidroxitilpalmitamida (PEA) (véase el ejemplo 10), identificada como LC88.

10 Como en la prueba anterior, se ha identificado la  $CI_{50}$  y es de 0,38 mg/ml (véase la figura 6).

Los datos obtenidos con respecto al porcentaje de inhibición de IL-6 se presentan en la tabla a continuación y en la figura 7.

Tabla 6

LC88 + LPS	pg/ml de IL6	% de inhib. de IL6
LC88 0,1 mg/ml	374,95	26,342
LC88 0,06 mg/ml	414,59	19,555
LC88 0,03 mg/ml	478,14	6,072
Control neg.	0	0
Control pos.	508,05	0
Control de calidad	0	100

15 Como se puede apreciar fácilmente a partir de los datos anteriores, ninguna de las dosis mostró acción citotóxica que pueda distorsionar el resultado de la evaluación de la actividad antiinflamatoria de la muestra sometida a prueba.

Todas las dosis de LC88 han demostrado ser capaces de inhibir la liberación de IL-6 con una dosis/respuesta de efecto significativo.

#### Pruebas *in vivo*

##### 1. Pruebas *in vivo* en animales

20 Se han realizado varios estudios en animales con el fin de confirmar la eficacia y seguridad de la mezcla de la presente invención (véase el ejemplo 9), en particular para el control de la sintomatología en los oídos externos de mascotas (gatos, perros).

25 Desde abril de 2013 hasta octubre de 2013 se inscribieron 33 ejemplares tanto de gatos como de perros pertenecientes a diferentes razas, con muchas patologías diferentes en el canal auditivo externo. En particular, se han observado 23 perros y 10 gatos.

Con relación a los perros: 5 mastines, 8 perros de caza, 10 terriers.

Con relación a los gatos se han observado 10 gatos, de los cuales 8 de raza europea y 2 de raza siamesa, conviviendo en dos colonias.

30 Todos los perros se han dividido basándose en la etiopatogenia/patología y de la pertenencia a las razas y la clasificación de la FCI (Federación cinológica internacional).

#### Estudio 1: estudio clínico en perros pertenecientes a la clase 2: mastín de muchas razas que padecen *Malassezia (Pityrosporum)*

5 perros Mastín, con edades de entre 8 meses y 5 años, tres machos y dos hembras

35 En la primera visita, el canal auditivo externo era edematoso y eritematoso en ambos oídos, con presencia de material ceroso y mal olor. La citología del oído revela la presencia de *Malassezia* en un número muy grande para cada muestra. La terapia proporciona el uso de un desinfectante para oídos veterinario a base de clorexidina que se administrará dos veces al día, mañana y noche, durante 15 días. En la segunda visita, es decir, diez días después, se añadió la administración de gotas para los oídos a base de ácidos grasos porque las levaduras en crecimiento se habían controlado, pero el canal auditivo todavía era eritematoso con síntomas persistentes en el animal. Después de

la administración de gotas para los oídos basadas en la mezcla del ejemplo 9, el siguiente control después de 4 días mostró que el canal auditivo externo se normalizó sin eritema y sin ningún síntoma mostrado por los animales.

5 Conclusiones: En la práctica normal, al menos el 40% de los perros deberían haber tenido una exacerbación de las levaduras (*Pityrosporum Ovale* o *Malassezia*), en el otro 40% la normalización del tejido habría llevado al menos 15/30 días, en el 20% restante la curación y la normalización del tejido habrían ocurrido en un período de 30/45 días. Las gotas para los oídos basadas en la mezcla del ejemplo 9 permitieron la remisión total de la inflamación y la curación en un período de tiempo de solo 3/4 días en todos los ejemplares tratados. Es muy importante subrayar el control de la inflamación en los tejidos, ya que este enfoque evita el estímulo de rascarse evitando así la exacerbación de la patología y permitiendo una curación muy rápida.

10 Estudio 2: Casos clínicos en perros pertenecientes a la clase 7 (perros de caza): etiopatogenia de cuerpo extraño:

Se han considerado 8 perros, 5 Setter, 3 Pointer, con edades de entre 2 y 5 años, 5 machos y 3 hembras, llevados a la clínica veterinaria por un problema en un oído.

15 En el canal auditivo externo se destacó la presencia de un cuerpo extraño. Después de haber retirado dicho cuerpo extraño y haber comprobado la integridad de la membrana timpánica, después de la limpieza del meato auditivo, se ha administrado un producto para los oídos basado en la mezcla del ejemplo 9 durante 5 días dos veces al día por la mañana y por la noche en el oído afectado. Después de 5 días de tratamiento, la visita de control mostró la normalización completa de los tejidos y la desaparición del eritema.

20 Conclusiones: En la práctica habitual, el 30% de los animales habrían desarrollado una sobreinfección y habrían sido tratados con antibióticos, el 40% habría tenido una inflamación persistente durante al menos 20/30 días después de la retirada del cuerpo extraño y una curación en un tiempo de entre 30 y 40 días, en el otro 30% de los animales una casi normalización en 20 días. Con el uso de gotas para los oídos a base de ácidos grasos en la fase posquirúrgica (retirada de cuerpos extraños), se ha controlado la inflamación permitiendo la normalización completa de los tejidos en 4/5 días, evitando la aparición de una sobreinfección.

25 Estudio 3: casos clínicos en perros pertenecientes a clase 3, Terrier, etiopatogenia de dermatitis atópica, alergias y alteraciones hormonales.

Se han observado 10 perros, 5 West Highlands White Terrier, 3 Jack Russel Terrier, 2 Yorkshire Terrier, con edades de entre 1 y 10 años, 7 hembras y 3 machos.

30 Todos los animales estaban afectados por dermatitis alérgica, dermatitis atópica con otitis sintomática. Algunos perros (5) en la visita mostraron una presencia de exudado con escamas cutáneas en la aurícula externa. Se ha administrado la mezcla del ejemplo 9 como dispositivo terapéutico único. Los resultados fueron asombrosos; en solo 3 días la situación mejoró significativamente hasta tener una piel casi normal, lo que permitió la posibilidad de realizar un examen en profundidad con otoscopio.

35 Conclusiones: La otitis debida a dermatitis alérgica es bastante común en el 15% de la población canina. El uso único de la mezcla de la presente invención permitió la resolución de la patología, con la normalización de los tejidos en muy poco tiempo, solo 3/4 días.

Estudio 4: Casos clínicos en gatos europeos y siameses: etiopatogenia de infecciones de oído por parásitos

40 10 gatos, 8 europeos y 2 siameses, 7 hembras y 3 machos castrados, con edades de entre 6 meses y 5 años, llevados a la visita por una otitis que mostró la naturaleza parasitaria. Todos los gatos mostraron abundante material en ambos canales auditivos con presencia de garrapatas y picazón severa y 3 de ellos desarrollaron otohematoma. A la terapia con salamectina spot-on, se le había añadido un producto a base de ácido graso para la normalización del tejido que determinó una resolución óptima en solo 2/3 días.

45 Conclusiones: en el 70% de los animales en las mismas condiciones patológicas, el edema y la picazón habrían persistido durante muchos días hasta 20/30 días, determinando de esta manera el daño adicional de los tejidos ya inflamados. La administración de la mezcla según el ejemplo 9 permitió una normalización del tejido en muy poco tiempo, normalizando el proceso tanto eritematoso como inflamatorio, y eliminando la sensación de picazón.

Conclusión de estudios:

50 Se observó una resolución muy rápida de las patologías hasta la desaparición de la sintomatología en muy poco tiempo. Por lo tanto, la mezcla de la presente invención debe considerarse un instrumento terapéutico válido para el control y el avance de procesos inflamatorios de etiologías variadas de patologías que afectan el oído externo de las mascotas.

Se han confirmado estos resultados mediante un estudio clínico adicional de una crema perioftálmica basada en la mezcla del ejemplo 9 para el tratamiento de mascotas con patologías perioftálmicas, todos los ejemplares que participaron en el estudio y las patologías relacionadas se presentan en la tabla a continuación.

Tabla 7

Ejemplar	m/h	Edad	Patología
2 Persiano	m/h	18m/3a	conjuntivitis alérgica
1 Ragdoll	m	5a	Blefaritis
2 Birmano	h/h	2a/7a	Conjuntivitis
1 Fold escocés	m	10a	Conjuntivitis poséptica
1 Balinés	h	2a	Blefaritis
1 Wirehair americano	h	4a	Calazio posquirúrgico
3 Bulldog	m/m/h	15m/3a/5a	Ectropión
2 Yorkshire Terrier	h/h	5a/12a	queratoconjuntivitis
1 Shih Tzu	m	4a	Ectropión
1 Mastín	m	5a	Conjuntivitis
1 San Bernardo	h	20m	Conjuntivitis
2 Shar Pei	h/h	15m/20m	Inflamación posquirúrgica
2 Carlino	m/m	1a/5a	queratoconjuntivitis

Todos los gatos y perros recibieron un tratamiento con una crema oftálmica basada en la mezcla de la presente invención, el estado de sintomatología se resolvió en un tiempo promedio de 5 días (desde 3 hasta 9 días) con una aplicación promedio de dos veces al día.

- 5 La crema perioftálmica basada en 9 ácidos grasos, demostró ser eficaz en el control y en el avance de la sintomatología relacionada con la inflamación de naturaleza variada en los párpados de perros y gatos.

## 2. Pruebas *in vivo* en seres humanos

10 Los siguientes datos se refieren a un estudio comparativo de crema vaginal GutLife y EvaLife, que contienen ambas la mezcla de la presente invención y PEA, para su administración a pacientes que reciben quimiorradiación para el SCC de conducto ano/anal. Este estudio se ha realizado en el centro de oncología de Southampton.

Hasta hace poco, ha habido una cantidad limitada de productos disponibles para que este grupo de pacientes los use para cualquier reacción cutánea que se desarrolle mientras se someten a radioterapia.

15 GutLife y EvaLife (pH equilibrado para mujeres) son cremas que contienen la mezcla de la presente invención (véase el ejemplo 10) y que pueden usarse para el tratamiento de cambios en la piel/mucosas (picazón, ardor, enrojecimiento, hinchazón y sensibilidad) en la zona anal y perianal en pacientes sometidos a radiación o quimioterapia.

GutLife es una crema anal y perianal que pueden usar pacientes tanto hombres como mujeres. EvaLife es específicamente para que la usen pacientes mujeres alrededor de la vagina y la vulva, tiene un pH equilibrado para ser más beneficioso para las pacientes mujeres.

### Estudio

20 Se propone que se sometan a ensayo GutLife y EvaLife para valorar su beneficio para el paciente y si reduce los ingresos hospitalarios para este grupo de pacientes. El estudio utiliza la escala RTOG para la valoración cutánea según lo aconsejado por la Sociedad de Radiógrafos y utilizado en el Centro de Oncología de Southampton. El médico y/o el radiógrafo colorrectal lo valoraron y registraron semanalmente. Se utilizaron puntuaciones de dolor y RTOG para cuatro pacientes (dos hombres y dos mujeres) como grupo de control en comparación con un 2º grupo que utilizó productos GutLife y EvaLife. Las valoraciones se realizaron en la misma clínica de revisión semanal cada semana durante el curso del tratamiento del paciente. Los resultados se pueden resumir y recopilar en una tabla

### Prescripción de dosis

Fase I: 30,6 Gy a MPD (punto de referencia ICRU) en 17 fracciones

30 Fase II: 19,8 Gy al 100% para plan conforme (punto de referencia ICRU) en 11 fracciones diarias. Dosis máxima 107%, mínima 95% dentro de PTV (Volumen objetivo de planificación).

O: 19,8 Gy a MPD en 11 fracciones diarias si campos opuestos paralelos

Quimioterapia concurrente

Los pacientes han recibido quimioterapia concurrente a través de una línea PICC (catéter central insertado periféricamente) como paciente ambulatorio.

Mitomicina C 12mg/m<sup>2</sup> Bolo IV Día 1 (máximo 20 mg) 5-Fluorouracilo 1000mg/m<sup>2</sup>/día infusión continua días 1-4 (semana 1) y día 29-32 (semana 5).

- 5 La quimioterapia se administró antes de recibir la primera fracción de radioterapia. Se usó la herramienta de valoración cutánea RTOG según lo aconsejado por la Sociedad de Radiógrafos con el fin de evaluar la reacción cutánea (véase la tabla 8)

Tabla 8

RTOG 0	RTOG 1	RTOG 2A	RTOG 2B	RTOG 3
Sin cambios visibles en la piel	Eritema débil o sin brillo	Eritema tierno o brillante	Edema húmedo de descamación húmeda irregular	Descamación húmeda confluyente

- 10 Los pacientes se sometieron a un tratamiento de radioterapia radical para el SCC del conducto ano/anal con quimioterapia concurrente de abril de 2012 - abril de 2013 en el Centro de Oncología de Southampton. en este período se trataron 28 pacientes mujeres y 11 pacientes hombres.

A partir de los datos recopilados durante los últimos 12 meses, hubo 39 pacientes tratados durante este tiempo, de los cuales hubo 6 ingresos confirmados al centro por reacciones adversas cutáneas atribuidas a la radioterapia, de este grupo 4 eran pacientes mujeres y 2 hombres.

- 15 Tabla 9: Resultados en pacientes con cáncer anal (grupo de control)

	Grupo de control			
	Paciente A Hombre	Paciente B Hombre	Paciente C Mujer	Paciente D Mujer
Puntuación máxima de RTOG	3 (registrado en la semana 4)	3 (registrado en la semana 5)	3 (registrado en la semana 6)	3 (registrado en la semana 5)
Ubicación	Escroto, ano, perineo e ingle	Escroto, ano, perineo e ingle	Perianal e ingle	Vagina, ano perineo e ingle
Puntuación de dolor máxima (1-10)	8	6	7	8
Crema acuosa	Sí	Sí	Sí	Sí
Uso de gel Purilon	No	Sí	Sí	Sí
Uso de apósitos Jelonet	No	Sí	Sí	Sí
Medicación	Ibuprofeno, Co-codamol + Oramorph	Oramorph, Zomorph.	Paracetamol, ibuprofeno, morfina tópica y Oramorph	Paracetamol, ibuprofeno, morfina tópica y Oramorph

Tabla 10: Resultados en pacientes con cáncer anal (grupo de ensayo)

	GutLife y EvaLife			
	Paciente 1 Hombre	Paciente 2 Hombre	Paciente 3 Mujer	Paciente 4 Mujer
Puntuación máxima de RTOG	3 (registrado en la semana 6)	2b (registrado en la semana 6)	2b (registrado en la semana 5)	3 (registrado en la semana 5)
Ubicación	Ano, ingle + escroto	Ano + escroto	Ano, perineo + ingle	Ano, perineo + ingle

Puntuación de dolor máxima (1-10)	5	5	4	7
GutLife/EvaLife	GutLife	GutLife	GutLife y EvaLife	GutLife y EvaLife
N.º total de tubos GutLife/EvaLife usados	6 GutLife	7 GutLife	5 EvaLife 4 GutLife (9 en total)	4 EvaLife 4 GutLife (8 en total)
Uso de gel Purilon	No	No	No	Sí
Uso de apósitos Jelonet	No	No	Sí	Sí
Medicación	Codeína + Oramorph	Tramadol (artritis) + paracetamol	Paracetamol	Paracetamol, Co-codamol, Oramorph + morfina tópica

Resumen

Debido a la disponibilidad limitada de GutLife y EvaLife, los productos solo pudieron usarse para cuatro pacientes. Aunque limitado en número de pacientes, todavía hay observaciones válidas e indicaciones de este estudio.

5 La puntuación máxima de RTOG para todos los pacientes en el grupo de control fue 3 en comparación con dos pacientes que puntuaron 3 (1 hombre, 1 mujer) usando GutLife y EvaLife también la puntuación de RTOG más alta para pacientes que usaron GutLife/EvaLife se produce más tarde en el tratamiento en comparación con el grupo control. Esto sugeriría que GutLife y EvaLife actúan de manera preventiva.

10 Parece haber un claro contraste entre las puntuaciones máximas de dolor del grupo de control y el grupo GutLife/EvaLife. La puntuación de dolor más alta registrada para el grupo de control fue 8 (registrada en dos pacientes) con una puntuación más baja de 6 (registrada en 1 paciente) en comparación con una puntuación alta de 7 en el grupo de estudio (registrada en 1 paciente), la puntuación de dolor más baja registrada en el grupo de ensayo fue 4.

Un paciente ingresó en el hospital del grupo de control debido a la reacción cutánea desarrollada a partir del tratamiento. Un paciente ingresó en el hospital del grupo de estudio, pero esto no se debió a una reacción cutánea.

15 A partir de este estudio limitado, los pacientes que estaban usando la crema GutLife y EvaLife gestionaron la reacción cutánea inducida por radioterapia mejor que aquellos en el grupo de control, notificando una puntuación de dolor más bajo en promedio, una puntuación máxima de RTOG más baja, así como retrasando la aparición de la reacción cutánea hasta las últimas dos semanas de tratamiento. Basándose en estos resultados favorables, los especialistas de radioterapia para cáncer anal apoyarían un ensayo multicéntrico más grande y/o incluirían la crema GutLife y EvaLife para que se usara para el cuidado cutáneo de rutina de pacientes con cáncer anal sometidos a radioterapia en el  
20 Centro de Oncología de Southampton.

## REIVINDICACIONES

- 5 1. Composición farmacéutica, cosmética y/o dietética que comprende una mezcla de al menos cinco ácidos grasos seleccionados de ácido palmítico, ácido oleico, ácido esteárico, ácido linoleico, ácido alfa linolénico, ácido gamma linolénico, ácido eicosapentaenoico (EPA), ácido docosahexaenoico (DHA), ácido azelaico y ácido mirístico y el excipiente fisiológicamente estable N-2-hidroxiethylpalmitamida.
2. Composición farmacéutica, cosmética y/o dietética según cualquiera de la reivindicación 1, que comprende una mezcla caracterizada por que comprende cinco ácidos grasos, tales como ácido palmítico, ácido oleico, ácido esteárico, ácido linoleico y ácido alfa linolénico.
- 10 3. Composición farmacéutica, cosmética y/o dietética según cualquiera de la reivindicación 1, que comprende una mezcla caracterizada por que comprende ocho ácidos grasos, tales como ácido palmítico, ácido oleico, ácido esteárico, ácido linoleico, ácido alfa linolénico, ácido gamma linolénico, ácido eicosapentaenoico y ácido docosahexaenoico.
- 15 4. Composición farmacéutica, cosmética y/o dietética según cualquiera de la reivindicación 1, que comprende una mezcla caracterizada por que comprende nueve ácidos grasos, tales como ácido palmítico, ácido oleico, ácido esteárico, ácido linoleico, ácido alfa linolénico, ácido gamma linolénico, ácido eicosapentaenoico, ácido docosahexaenoico y ácido azelaico.
- 20 5. Composición farmacéutica, cosmética y/o dietética según cualquiera de la reivindicación 1, caracterizada por que el ácido palmítico está contenido en dicha mezcla en una cantidad en peso comprendida entre el 0,2% y el 48%; el ácido oleico está contenido en dicha mezcla en una cantidad en peso comprendida entre el 0,2% y el 38%; el ácido esteárico está contenido en dicha mezcla en una cantidad en peso comprendida entre el 0,2% y el 42%; el ácido linoleico está contenido en dicha mezcla en una cantidad en peso comprendida entre el 0,2% y el 40%; el ácido alfa linolénico está contenido en dicha mezcla en una cantidad en peso comprendida entre el 0,2% y el 38%; el ácido gamma linolénico está contenido en dicha mezcla en una cantidad en peso comprendida entre el 0,2% y el 30%; el ácido eicosapentaenoico está contenido en dicha mezcla en una cantidad en peso comprendida entre el 0,2% y el 25%; el ácido docosahexaenoico está contenido en dicha mezcla en una cantidad en peso comprendida entre el 0,2% y el 25%; el ácido azelaico está contenido en dicha mezcla en una cantidad en peso comprendida entre el 0,2% y el 40%; el ácido mirístico está contenido en dicha mezcla en una cantidad en peso comprendida entre el 0,005% y el 0,01%, con respecto al peso total de la mezcla.
- 25 6. Composición según la reivindicación 1, caracterizada por que el ácido palmítico está contenido en dicha composición en una cantidad en peso comprendida entre el 5% y el 45%; el ácido oleico está contenido en dicha composición en una cantidad en peso comprendida entre el 2% y el 35%; el ácido esteárico está contenido en dicha composición en una cantidad en peso comprendida entre el 2% y el 35%; el ácido linoleico está contenido en dicha composición en una cantidad en peso comprendida entre el 1% y el 40%; el ácido alfa linolénico está contenido en dicha composición en una cantidad en peso comprendida entre el 1% y el 25%; el gamma linolénico está contenido en dicha composición en una cantidad en peso comprendida entre el 0,5% y el 10%; el ácido eicosapentaenoico está contenido en dicha composición en una cantidad en peso comprendida entre el 1% y el 20%; el ácido docosahexaenoico está contenido en dicha composición en una cantidad en peso comprendida entre el 1% y el 25%, el ácido azelaico está contenido en dicha composición en una cantidad en peso comprendida entre el 0,5% y el 10%, el ácido mirístico está contenido en dicha composición en una cantidad en peso comprendida entre el 0,05% y el 1%, con respecto al peso total de la composición.
- 30 7. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, caracterizada por que está en forma oral, tópica, rectal, vaginal, oftálmica o parenteral.
- 35 8. Composición según la reivindicación 7, caracterizada por que dicha forma oral se selecciona de comprimido, cápsula, gránulo, perla de aceite, disolución, suspensión, portador y aerosol, preferiblemente dicha forma oral es comprimido, cápsula o disolución.
- 40 9. Composición según la reivindicación 7, caracterizada por que dicha forma tópica se selecciona de crema, pomada, gel, disolución, suspensión, pulverizador, parche y polvo liofilizado granular, preferiblemente dicha forma tópica es crema, gel, pulverizador, pomada o polvo liofilizado granular.
- 45 10. Composición según la reivindicación 7, caracterizada por que dicha forma parenteral se selecciona de disolución tampón acuosa y suspensión oleosa, preferiblemente dicha forma parenteral es suspensión oleosa.
- 50 11. Composición según la reivindicación 7, caracterizada por que dicha forma rectal es un supositorio, un enema o una disolución para uso endocavitario.
12. Composición según la reivindicación 7, caracterizada por que dicha forma vaginal es un óvulo, un catéter, un gel o una disolución para uso endocavitario.

13. Composición según la reivindicación 7, caracterizada por que dicha forma oftálmica es una gota para los ojos, un lavado para los ojos, una crema o una pomada.
14. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1-13, caracterizada por que la mezcla según una cualquiera de las reivindicaciones 1-5 está presente en dicha composición en una cantidad en peso comprendida entre el 10% y el 60%, preferiblemente entre el 15% y el 45% con respecto al peso total de la composición.
15. Composición según la reivindicación 1, caracterizada por ser una composición dermocosmética, un medicamento, un suplemento dietético o un producto sanitario.
16. Composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 1-15, para su uso en el tratamiento de patologías inflamatorias, preferiblemente dichas patologías inflamatorias están en fase aguda o crónica.
17. Composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 16, caracterizada por que dichas patologías inflamatorias son patologías dermatológicas seleccionadas de dermatitis atópica, dermatomiositis, esclerodermia, psoriasis, polimiositis, pénfigo y epidermolisis ampollosa penfigoide, o patologías oftálmicas seleccionadas de síndrome de Sjogren, oftalmia simpática, uveítis y uveo-retinitis, o enfermedades de la mucosa seleccionadas de inflamación de las membranas mucosas gastrointestinales (enfermedad de Crohn) e inflamación de la mucosa oral y genital, o patologías articulares y conectivas seleccionadas de artritis reumatoide, artritis psoriásica, lupus eritematoso y lupus eritematoso discoide y sistémico, o inflamación patológica crónica seleccionada de dermatitis solar crónica, asma y fibrosis intestinal y pulmonar, y artritis crónica, o enfermedades degenerativas del sistema nervioso periférico y del sistema nervioso central seleccionadas de esclerosis múltiple, trastornos neurodegenerativos autoinmunes, trastornos neurodegenerativos no autoinmunes, procesos inflamatorios asociados al sistema nervioso central como la enfermedad de Parkinson, demencia senil, meningitis bacteriana, infección por VIH y lesión traumática, y enfermedades del sistema nervioso periférico como radiculopatías de origen inflamatorio, o enfermedades del sistema nervioso central y periférico donde los procesos inflamatorios siguen a la primera agresión de origen isquémico, tal como neuropatía debida a compresión y neuropatía traumática, derrame cerebral y lesión cerebral traumática, o enfermedades cardiológicas derivadas de fenómenos de perfusión como resultado de daño isquémico.
18. Composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 17, caracterizada por administrarse a un ser humano o a un animal, preferiblemente cuando se administra a un animal, dicha mezcla y/o composición se usa para el tratamiento de inflamación neurogénica, enfermedades articulares y conectivas tales como laminitis en caballos, artritis, patologías respiratorias, inflamación oftálmica, queratoconjuntivitis seca y manifestación inflamatoria alérgica.
19. Composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 18, caracterizada por administrarse diariamente, de desde una hasta cuatro dosis al día, preferiblemente por administrarse durante al menos 4 semanas, más preferiblemente dicha dosis contiene de desde 0,1 hasta 50 mg de composición/kg de peso corporal del paciente, preferiblemente de desde 0,5 hasta 20 mg/kg de peso corporal del paciente.

FIGURA 1:

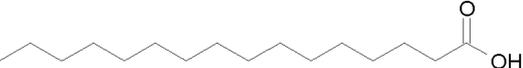
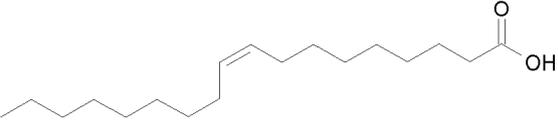
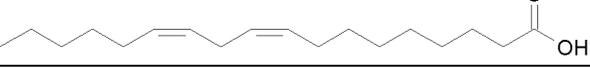
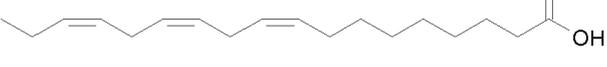
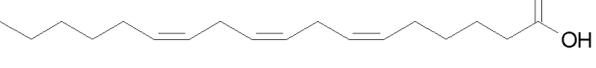
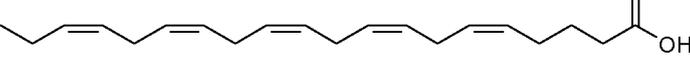
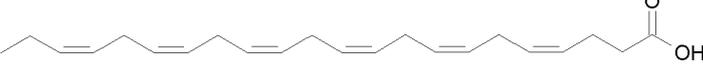
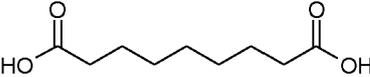
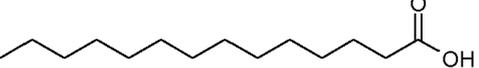
Nombre químico	Estructura química
Ácido palmítico	
Ácido oleico	
Ácido esteárico	
Ácido linoleico	
Ácido alfa linolénico	
Ácido gamma linolénico	
Ácido eicosapentaenoico	
Ácido docosaesaenoico	
Ácido azelaico	
Ácido mirístico	

FIGURA 2

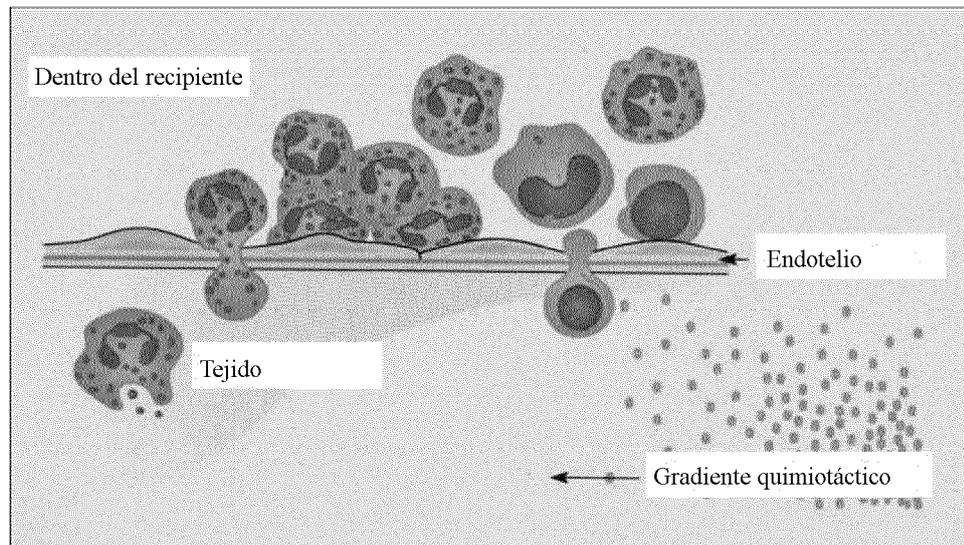


FIGURA 3

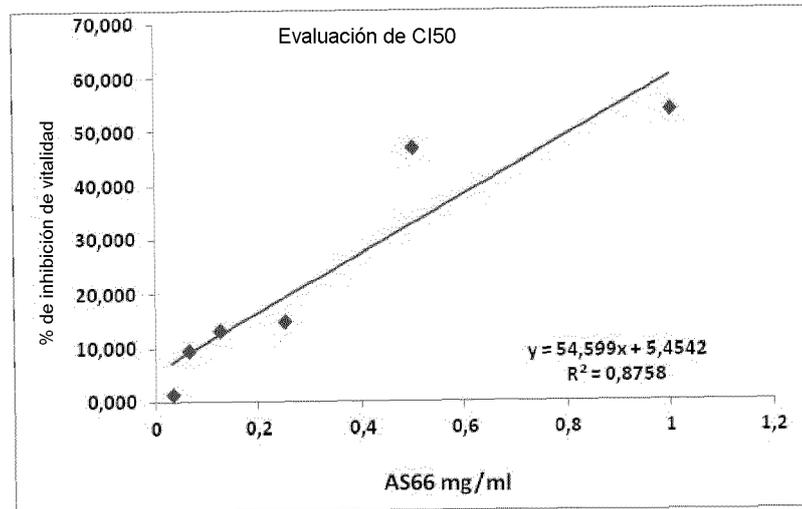


FIGURA 4

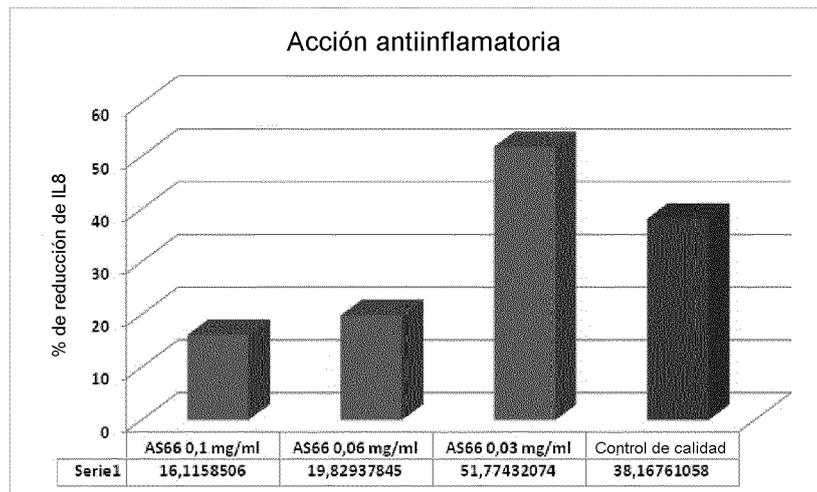
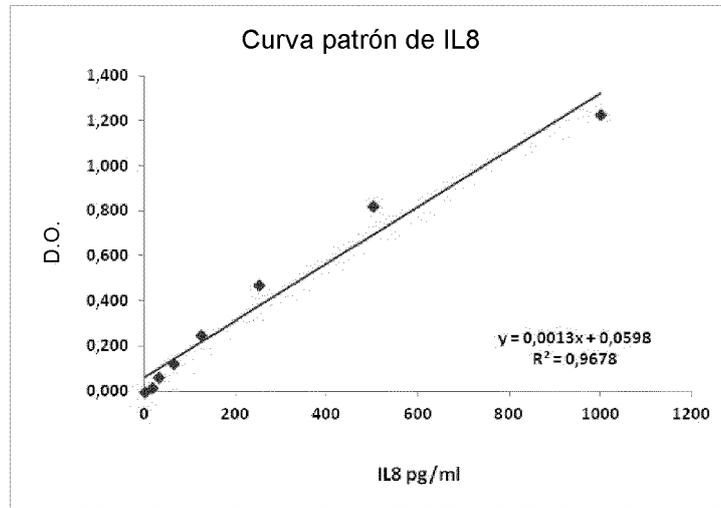


FIGURA 5

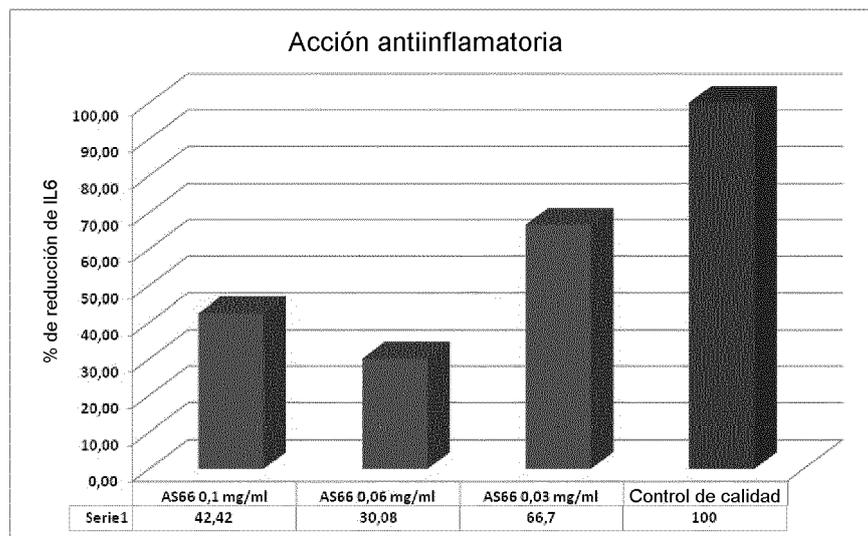
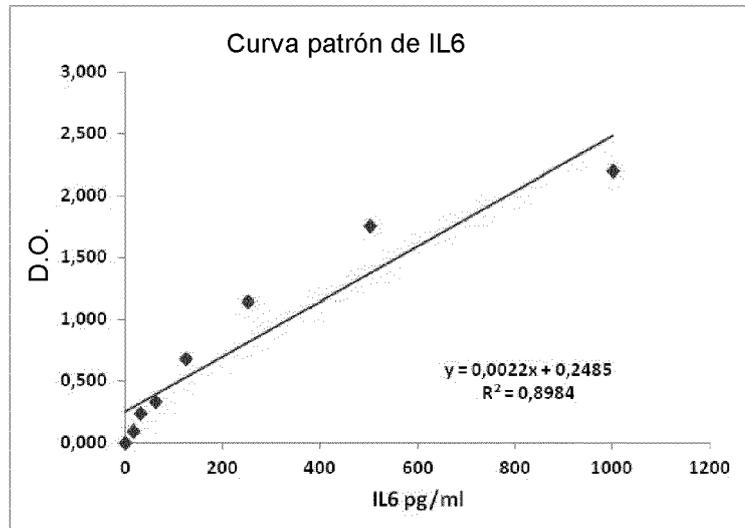


FIGURA 6

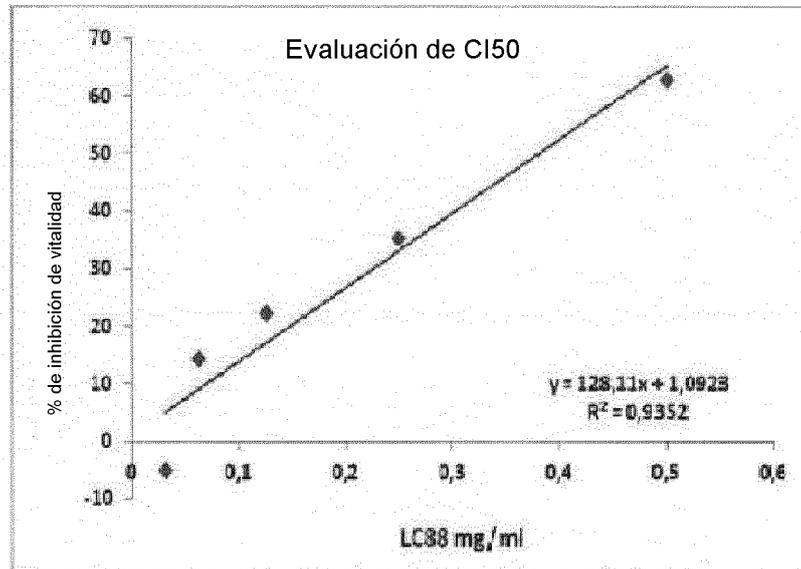


FIGURA 7

