(19) Евразийское патентное ведомство

(11) 035091 (13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2020.04.27

(21) Номер заявки
201591680

(22) Дата подачи заявки
2014.03.04

(51) Int. Cl. ***A61K 31/20*** (2006.01)
A61K 31/201 (2006.01)
A61K 31/202 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)
A61P 17/00 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)
A61P 19/00 (2006.01)
A61P 27/00 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)

(54) СМЕСЬ ЖИРНЫХ КИСЛОТ (ГЖК, ГРУППА ЖИРНЫХ КИСЛОТ) И ЕЁ ПРИМЕНЕНИЕ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ПАТОЛОГИЙ

(31) **MI2013A000354; 61/774,796**
(32) **2013.03.08**
(33) **IT; US**
(43) **2015.12.30**
(86) **PCT/EP2014/054163**
(87) **WO 2014/135529 2014.09.12**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ЭГЕН ЛАЙФ ИТАЛИЯ СРЛ (IT)

(72) Изобретатель:
Бураттин Лодовико (IT)

(74) Представитель:
Гончаров В.В. (BY)

(56) US-A1-2010113387
US-A1-2012252888
US-A1-2005208162
JP-A-2009149599

(57) Изобретение относится к смеси как минимум трех жирных кислот, выбранных из пальмитиновой, олеиновой, стеариновой, линолевой, альфа-линоленовой, гамма-линоленовой, эйкозапентаеновой (ЭПК), докозагексановой (ДГК), азелаовой и миристиновой кислот. Заявленное изобретение также относится к применению вышеупомянутой смеси для лечения воспалительных патологий.

035091 B1

035091 B1

Существующий уровень техники

Жирные кислоты представляют собой алифатические карбоновые кислоты и являются составными ингредиентами практически всех сложных липидов растительных и животных жиров. Данные компоненты можно классифицировать в соответствии с длиной углеродной цепи и/или присутствия двойных связей в данной цепи (насыщенные, ненасыщенные жирные кислоты).

В частности, некоторые ненасыщенные жирные кислоты являются незаменимыми, поскольку они не вырабатываются в организме, а должны поступать извне вместе с пищей. В их числе, некоторые кислоты различают в зависимости от положения последней двойной связи в углеродной цепи, например Омега-3, в которой последняя двойная связь расположена на третьем углероде от конца (к примеру, линоленовая кислота), Омега-6, в которых последняя двойная связь расположена на шестом углероде от конца (например, линолевая кислота) или, помимо этого, Омега-9, в которой последняя двойная связь расположена на девятом углероде от конца (например, олеиновая кислота).

В 1964 г., 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) продемонстрировали роль и биологическое действие липидов в развитии воспалительного процесса и прочих заболеваний. В 1979 г. был обнаружен первый фосфолипид, а именно, фосфатидилинозитол, и выявлен механизм его действия в активации процессов клеточных реакций, в которых упомянутый фосфолипид обладает способностью активирования и контроля активности посредством элементов-мессенджеров.

Липиды, таким образом, оказывают различные действия в организме, включая роль химических мессенджеров, которые могут вызывать изменения в реакции отдельных клеток или определять действия, которые могут изменить микросреду, как, например, в случае процессов, вовлеченных в ответ на воспалительные повреждения. Липиды в этерифицированной форме могут проникать в мембрану и транспортироваться в качестве сигнальных элементов в другие клетки. Данные соединения могут также связываться с определенными белками и оставаться неактивными до момента достижения места реакции и связываться с нужным рецептором.

Незаменимые жирные кислоты, например, линолевая кислота и линоленовая кислоты, известны как предшественники арахидоновой кислоты, присутствующей на фосфолипидах мембран (например, клеточных мембран) и многих различных типов эйкозаноидов, т.е. веществ, вовлеченных в воспалительную реакцию организма, включая гидроксиэйкозатетраеновые кислоты, простаноиды (простагландины, тромбоксаны и простациклины), лейкотриены, липоксины и резольвины, химические посредники, играющие важную роль в механизмах развития боли, лихорадки, отека, свертывания крови, и в общем, самого воспаления.

Как известно, воспалительный процесс представляет собой многофакторную физиологическую реакцию, характеризующуюся участием различных клеток иммунной системы, например, тучных клеток, макрофагов, базофилов и/или лимфоцитов, с различным временем интервенции.

Одними из первых клеток, активно включающимися в воспалительный процесс, являются тучные клетки, чья способность реагировать и инициировать воспалительную реакцию включается буквально в доли секунды. Активация, таким образом, генерирует серию реакций, результатом которых является высвобождение префомированных медиаторов, содержащихся внутри их цитоплазмы; в быстром развитии, инициируются и активируются макрофаги.

Действие макрофагов можно структурировать в 2 фазы: первая, известная как M1, включает активацию серии реакций, результатом которых является высвобождение в микросреду химических медиаторов, таких, как ФРН (фактор роста нервной ткани), ФРСЭ (фактор роста сосудистого эндотелия), ФРФ (фактор роста фибробластов), гистамин, интерлейкины, цитокины и продукты липида, такие как арахидоновая кислота, простагландины и гепарин, которые могут вызвать и поддержать воспалительный процесс, а также привлечь другие клетки в иммунной системе к зоне воспаления. Вторая фаза, известная как M2, включает активацию феномена "ловушки", нацеленного на устранение продуктов распада, образующихся вследствие разрушения агента, ответственного за воспалительное действие. Между фазой активации макрофага в M1 и M2, базофилы - чья роль заключается в высвобождении гистамина в микросреду, подвергнутую агрессии агента воспаления - привлечены и активированы, приводя к расширению кровеносных сосудов и, следовательно, отеку в результате диапедеза иммуноцитов или кровоизлияния. Когда воспалительная реакция достигла фазы диапедеза, лимфоциты - чья роль заключается в противодействии патогенному агенту, достигают очага воспаления. Всего за несколько секунд активируется весь воспалительный процесс. Все сложные биологические системы отрегулированы системой противодействия, основанной на механизмах антагонизма и агонизма. В более широком трактовании, дегрануляция медиаторов тучных клеток вызывает серию явлений, которые синтезируются во время воспалительного процесса.

Вышеупомянутые клетки в иммунной системе самоотрегулированы посредством точных механизмов рецептора, включающих сложную систему рецепторов, экспрессированных в цитоплазматической мембране, которая может быть сверхвыражена во время процессов стимуляции.

Данная сверхэкспрессия определяет высвобождение, в пределах внеклеточного пространства, серии

химических посредников, которые вызывают серию событий, цель которых состоит в том, чтобы защитить микроокружающую среду ткани и вызвать восстановление. Система отрегулирована производством антагонистов рецептора, которые вырабатываются самой клеткой из жирных кислот, взятых от клеточной мембраны.

Эти биологические системы основаны на рецепторном контроле: следом за стимуляцией патогенного агента, клетки вырабатывают определенные рецепторы, которые насыщаются самопроизведенными посредниками, т.е. формируются из жирных кислот, составляющих мембраны упомянутых клеток. Выработка рецепторов является механизмом, посредством которого клетки, вовлеченные в воспалительный процесс, в состоянии передавать факторы роста, интерлейкины, цитокины, и т.д., в микроокружающую среду. Насыщенность этих рецепторов позволяет сначала осуществить сокращение и затем модуляцию дегрануляции посредников, присутствующих в пределах цитоплазмы клеток, вовлеченных в воспалительный процесс (тучные клетки, в особенности), пока не остановлена стимуляция, вызванная присутствием патогенного агента.

Этот механизм регулирования, однако, заканчивает свое действие, когда непрерывное истощение жирных кислот в клеточных мембранах наносит вред самой клетке. В этих условиях рецепторы сверхвыражены и для клетки это означает сигнал к дегрануляции, нацеленной на посредников, вызывающих защитные реакции, которые больше не нужны.

Поэтому, если бы не было никакого рецепторного контроля, то клетки, очевидно, вызвали бы дегрануляцию всего существующего в цитоплазме, приводя к притоку других клеток к микроокружающей среде. Это тогда привело бы к раздражению системы, которая - в состоянии активности - могла стать источником повреждения, дав начало хроническим воспалительным патологиям и аутоиммунным болезням, таким как ревматоидный артрит, рассеянный склероз и системная красная волчанка.

Поэтому очень важно, чтобы при данных патологических состояниях организм мог управлять сверхактивным воспалительным процессом посредством формирования антагониста рецептора, состоящего из жирных кислот, взятых от мембраны тех же самых клеток.

В настоящее время, чтобы удовлетворить насущные потребности, исследования сконцентрировались на диетических стратегиях, разработанных для уменьшения синтеза провоспалительных химических посредников, таких как простагландины, уменьшая потребление растительных масел и жирного мяса, и увеличивая потребление рыбы и определенных особых масел, таких как лен и конопля. С применением данного метода считается, что большие количества эйкозапентаеновой кислоты и докозагексаеновой кислоты (омега 3) могут включаться в мембранные фосфолипиды вместо арахидоновой кислоты.

Тем не менее, известно, что эти диетические стратегии недостаточны для устранения серьезных воспалительных патологий, такие как ревматоидный артрит, хронический неспецифический язвенный колит, системная красная волчанка, воспаление тазовых органов или атеросклероз, и необходимо применение фармакологических методов лечения.

В настоящее время фармакологические методы лечения, используемые при терапии воспалительных патологий, включают кортикостероиды (такие как кортизон и аналоговые вещества) или НПВП (нестероидные противовоспалительные препараты), которые действуют на разные уровни каскада арахидоновой кислоты. Кортикостероиды противодействуют высвобождению арахидоновой кислоты из фосфолипидов посредством блокирования активности фосфолипазы, включая фосфолипазу А2 (лп-ФЛА2) и фосфолипазу С (ФЛС). В частности, механизм, при помощи которого кортикостероиды проявляют свое противовоспалительное и иммунодепрессивное действие, высоко структурирован и включает несколько биохимических процессов, осуществляемых клетками в ответ на потенциально вредные стимулы (например, возбудители инфекции, аллергены, посторонние включения, аномальные клетки, и т.д.).

Роль этого механизма заключается в активации иммунного ответа, его поддержании до устранения угрозы, и затем ослабления реакции таким образом, чтобы не причинить вред организму (как это происходит, например, в случаях хронического воспаления или при аутоиммунных болезнях). В частности кортикостероиды ингибируют клеточные процессы, которые приводят к синтезу провоспалительных и иммуностимуляторных веществ и, наоборот, активируют клеточные процессы, которые приводят к синтезу противовоспалительных и иммунодепрессивных веществ, чтобы уменьшить симптомы болезни.

Помимо противовоспалительного/иммунодепрессивного эффекта, побочные эффекты синтезируемых кортикостероидов обычно проявляются вследствие того, что оные противодействуют функционированию гомеостатических систем организма и поэтому могут вызвать следующие расстройства: гипертонию, задержку жидкости, гипергликемию, потерю калия, остеопороз, гипертрофию мышц, ломкость капилляров, длительное заживление ран, гиперлипидемию, накопление жировой ткани в лице, шее и животе, гастродуоденальные язвы, увеличение свертываемости крови, гематологические расстройства, эйфорию и бессонницу.

При длительном лечении, кроме того, эти фармакологические вещества имеют тенденцию ингибировать производство аналоговых естественных гормонов надпочечниками, таким образом вызывая ситуацию надпочечной недостаточности, которая протекает с серьезными последствиями, особенно после прекращения терапии. Кроме того, длительное использование кортикостероидов связано с их иммунодепрессивным действием, что повышает восприимчивость к инфекциям.

НПВП, между тем, вмешиваются в каскад арахидоновой кислоты на другом уровне, ингибируя циклооксигеназы ЦОГ-1 и 2, которые вовлечены в воспалительные процессы. Наиболее распространенные побочные эффекты - те, которые затрагивают пищеварительную систему, в частности живот, включают боль, ощущения горения желудка или тошноту и изъязвление слизистой оболочки желудка с возможным кровотечением; а также реакции кожи у восприимчивыхпациентов (эритема, крапивница).

Поэтому, наличествует потребность определить один или несколько составов для лечения воспаления, которые могут эффективно заблокировать гиперактивность воспалительного процесса, уменьшив побочные эффекты, связанные с традиционные методами лечения.

Краткое описание фигур

Фиг. 1 - сводная таблица, содержащая химические структуры жирных кислот данного изобретения.

Фиг. 2 - механизм действия макрофагов.

Фиг. 3 - определение IC_{50} для AS66.

Фиг. 4 - стандартная кривая и процент ингибирования IL-8 с AS66.

Фиг. 5 - стандартная кривая и процент ингибирования IL-6 с AS66.

Фиг. 6 - определение IC_{50} для LC88.

Фиг. 7 - стандартная кривая и процент ингибирования IL-6 с LC88.

Описание

К удивлению авторов, было обнаружено, что смесь определенных жирных кислот может эффективно лечить воспалительный процесс с улучшенным контролем регулирующей системы и без побочных эффектов, посредством биологической модуляции клеток, вовлеченных в воспалительный процесс (BMIC Биологическая Модуляция Клеток воспаления).

Один объект данного изобретения, поэтому, представляет собой смесь по крайней мере трех жирных кислот, содержащих от 8 до 24 атомов углерода, причем упомянутые жирные кислоты могут быть насыщенными, или ненасыщенными, или их смесью.

Смесь согласно заявленному изобретению предпочтительно содержит от трех до десяти жирных кислот, и, более предпочтительно, упомянутая смесь содержит четыре, пять, восемь или девять жирных кислот.

Упомянутые жирные кислоты предпочтительно отобраны из пальмитиновой кислоты, олеиновой кислоты, стеариновой кислоты, линолевой кислоты, альфа-линоленовой кислоты, гамма линоленовой кислоты, эйкозапентаеновой кислоты (ЭПК), докозагексановой кислоты (ДГК), азелаовой кислоты и миристиновой кислоты или их смеси.

Термин пальмитиновая кислота согласно этому изобретению относится к гексадекановой кислоте, т.е. влажной одноосновной карбоновой кислоте, содержащей 16 атомов углерода (фиг. 1).

Термин олеиновая кислота согласно этому изобретению относится к цис-9-октадеценоевой кислоте, т.е. ненасыщенной одноосновной карбоновой кислоте (омега 9), содержащей 18 атомов углерода (фиг. 1).

Термин стеариновая кислота согласно этому изобретению относится к стеариновой кислоте, т.е. влажной одноосновной карбоновой кислоте, содержащей 18 атомов углерода (фиг. 1).

Термин линолевая кислота согласно этому изобретению относится к цис-, цис-9,12-октадеценовой кислоте, т.е. ненасыщенная одноосновная карбоновая кислота (омега 6), содержащая 18 атомов углерода (фиг. 1).

Термин альфа-линоленовая кислота согласно этому изобретению относится к цис-, цис-, цис-9,12,15-октадекатриеновой кислоте, т.е. ненасыщенная одноосновная карбоновая кислота (омега 3), содержащая 18 атомов углерода (фиг. 1).

Термин гамма линоленовая кислота, согласно этому изобретению, относится к цис, цис, цис-6,9,12-октадекатриеновой кислоте, т.е. ненасыщенная одноосновная карбоновая кислота (омега 6), содержащая 18 атомов углерода (фиг. 1).

Термин эйкозапентаеновая кислота (ЭПК) согласно этому изобретению относится к (5Z, 8Z, 11Z, 14Z, 17Z)-эйкоза-5,8,11,14,17-пентеновой кислоте, т.е. к ненасыщенной одноосновной карбоновой кислоте (омега 3) содержащей 20 атомов углерода (фиг. 1).

Термин докозагесановая кислота (ДГК) согласно этому изобретению относится к (4Z, 7Z, 10Z, 13Z, 16Z, 19Z)-докоза-4,7,10,13,16,19-гексановой кислоте, т.е. к ненасыщенной одноосновной карбоновой кислоте (омега 3), содержащей 22 атома углерода (фиг. 1).

Термин азелаовая кислота, согласно этому изобретению, относится к гептандикарбоновой кислоте, т.е. влажной дикарбоновой кислоте, содержащей 9 атомов углерода (фиг. 1).

Термин миристиновая кислота, согласно этому изобретению, относится к тетрадекановой кислоте, т.е. влажной одноосновной карбоновой кислоте, содержащей 14 атомов углерода (фиг. 1).

Предпочтительно, смесь согласно данному изобретению содержит шесть жирных кислот, а именно: пальмитиновая кислота, олеиновая кислота, линолевая кислота, альфа-линоленовая кислота, гамма-линоленовая кислота и эйкозапентаеновая кислота (ЭПК).

Предпочтительно, смесь согласно данному изобретению содержит семь жирных кислот, а именно: пальмитиновая кислота, олеиновая кислота, стеариновая кислота, линолевая кислота, альфа-линоленовая кислота, и эйкозапентаеновая кислота (ЭПК), и докозагесановая кислота (ДГК).

Более предпочтительно, смесь согласно данному изобретению содержит четыре жирных кислоты, а именно: пальмитиновая кислота, олеиновая кислота, стеариновая кислота и линолевая кислота.

Более предпочтительно, смесь согласно данному изобретению содержит пять жирных кислот, а именно: пальмитиновая кислота, олеиновая кислота, стеариновая кислота, линолевая кислота и альфа-линоленовая кислота.

Более предпочтительно, упомянутая смесь содержит восемь жирных кислот, а именно: пальмитиновая кислота, олеиновая кислота, стеариновая кислота, линолевая кислота, альфа-линоленовая кислота, гамма линоленовая кислота, эйкозапентаеновая кислота (ЭПК) и докозагесановая кислота (ДГК). Более предпочтительно, упомянутая смесь содержит девять жирных кислот, а именно: пальмитиновая кислота, олеиновая кислота, стеариновая кислота, линолевая кислота, альфа-линоленовая кислота, гамма линоленовая кислота, эйкозапентаеновая кислота (ЭПК), докозагесановая кислота (ДГК) и азелаовая кислота.

Согласно одному из практических воплощений данного изобретения, пальмитиновая кислота содержится в смеси в количестве от 0.2 до 48% по весу; олеиновая кислота содержится в смеси в количестве от 0.2 до 38% по весу; стеариновая кислота содержится в смеси в количестве от 0.2 до 42% по весу; линолевая кислота содержится в смеси в количестве от 0.2 до 40% по весу; альфа-линоленовая кислота содержится в смеси в количестве от 0.2 до 38% по весу; гамма-линолевая кислота содержится в смеси в количестве от 0.2 до 30% по весу; эйкозапентаеновая кислота содержится в смеси в количестве от 0.2 до 25% по весу; докозагесановая кислота содержится в смеси в количестве от 0.2 до 25% по весу; азелаовая кислота содержится в смеси в количестве от 0.2 до 40% по весу; миристиновая кислота содержится в смеси в количестве от 0.005 до 0.01% по весу;

Вышеупомянутые проценты являются количествами, по весу выраженными относительно общей массы смеси.

В случае, когда вышеупомянутая смесь данного изобретения содержит четыре жирных кислоты, пальмитиновая кислота содержится в вышеупомянутой смеси в количестве от 0.2 до 48% по весу, предпочтительно от 30 до 45% по весу и более предпочтительно приблизительно до 40% от общей массы смеси. В вышеупомянутой смеси олеиновая кислота содержится в количестве от 0.2 до 38% по весу, предпочтительно от 15 до 30% по весу и более предпочтительно приблизительно до 25% от общей массы смеси.

В вышеупомянутой смеси стеариновая кислота содержится в количестве от 0.2 до 42% по весу, предпочтительно от 20 до 35% по весу и более предпочтительно приблизительно до 32% от общей массы смеси.

В вышеупомянутой смеси линолевая кислота содержится в количестве от 0.2 до 38% по весу, предпочтительно от 1 до 4% по весу и более предпочтительно приблизительно до 3% от общей массы смеси.

Когда вышеупомянутая смесь данного изобретения содержит пять жирных кислот, пальмитиновая кислота содержится в вышеупомянутой смеси в количестве от 0.2 до 48% по весу, предпочтительно от 20 д 40% по весу и более предпочтительно приблизительно до 38% от общей массы смеси.

В вышеупомянутой смеси олеиновая кислота содержится в количестве от 0.2 до 38% по весу, предпочтительно от 20 до 30% по весу, и более предпочтительно приблизительно до 27% от общей массы смеси.

В вышеупомянутой смеси стеариновая кислота содержится в количестве от 0.2 до 42% по весу, предпочтительно от 7 до 15% по весу и более предпочтительно приблизительно до 10% от общей массы смеси.

В вышеупомянутой смеси линолевая кислота содержится в количестве от 0.2 до 40% по весу, предпочтительно от 8 до 20% по весу и более предпочтительно приблизительно до 15% от общей массы смеси.

В вышеупомянутой смеси альфа-линоленовая кислота содержится в количестве от 0.2 до 38% по весу, предпочтительно от 2 до 15% по весу и более предпочтительно приблизительно до 10% от общей массы смеси.

Когда вышеупомянутая смесь данного изобретения содержит восемь жирных кислот, пальмитиновая кислота содержится в вышеупомянутой смеси в количестве от 0.2 до 48% по весу, предпочтительно от 20 до 38% по весу, и более предпочтительно приблизительно до 30% от общей массы смеси.

В вышеупомянутой смеси олеиновая кислота содержится в количестве от 0.2 до 38% по весу, предпочтительно от 10 до 15% по весу и более предпочтительно приблизительно до 12% от общей массы смеси.

В вышеупомянутой смеси стеариновая кислота содержится в количестве от 0.2 до 42% по весу, предпочтительно от 8 до 15% по весу и более предпочтительно приблизительно до 12% от общей массы смеси.

В вышеупомянутой смеси линолевая кислота содержится в количестве от 0.2 до 40% по весу, предпочтительно от 10 до 20% по весу и более предпочтительно приблизительно до 18% от общей массы смеси.

В вышеупомянутой смеси альфа-линоленовая кислота содержится в количестве от 0.2 до 38% по весу, предпочтительно от 10 до 15% по весу и более предпочтительно приблизительно до 12% от общей

массы смеси.

В вышеупомянутой смеси гамма-линолевая кислота содержится в количестве от 0.2 до 30% по весу, предпочтительно от 1 до 3% по весу и более предпочтительно приблизительно до 2% от общей массы смеси.

В вышеупомянутой смеси эйкозапентаеновая кислота содержится в количестве от 0.2 до 25% по весу, предпочтительно от 5 до 10% по весу и более предпочтительно приблизительно до 8% от общей массы смеси.

В вышеупомянутой смеси докозагексановая кислота содержится в количестве от 0.2 до 25% по весу, предпочтительно от 4 до 10% по весу и более предпочтительно приблизительно до 6% от общей массы смеси.

Когда вышеупомянутая смесь данного изобретения содержит девять жирных кислот, пальмитиновая кислота содержится в вышеупомянутой смеси в количестве от 0.2 до 48% по весу, предпочтительно от 20 до 30% по весу и более предпочтительно приблизительно до 25% от общей массы смеси.

В вышеупомянутой смеси олеиновая кислота содержится в количестве от 0.2% до 38% по весу, предпочтительно от 10 до 16% по весу и более предпочтительно приблизительно до 14% от общей массы смеси.

В вышеупомянутой смеси стеариновая кислота содержится в количестве от 0.2 до 42% по весу, предпочтительно от 8 до 15% по весу и более предпочтительно приблизительно до 12% от общей массы смеси.

В вышеупомянутой смеси линолевая кислота содержится в количестве от 0.2 до 40% по весу, предпочтительно от 15 до 25% по весу и более предпочтительно приблизительно до 20% от общей массы смеси.

В вышеупомянутой смеси альфа-линоленовая кислота содержится в количестве от 0.2 до 38% по весу, предпочтительно от 5% до 10% по весу и более предпочтительно приблизительно до 8% от общей массы смеси.

В вышеупомянутой смеси гамма-линолевая кислота содержится в количестве от 0.2 до 30% по весу, предпочтительно от 2 до 6% по весу и более предпочтительно приблизительно до 4% от общей массы смеси.

В вышеупомянутой смеси эйкозапентаеновая кислота содержится в количестве от 0.2 до 25% по весу, предпочтительно от 5 до 10% по весу и более предпочтительно приблизительно до 7% от общей массы смеси.

В вышеупомянутой смеси докозагексановая кислота содержится в количестве от 0.2 до 25% по весу, предпочтительно от 5 до 10% по весу и более предпочтительно приблизительно до 8% от общей массы смеси.

В вышеупомянутой смеси азелаовая кислота содержится в количестве от 0.2 до 40% по весу, предпочтительно от 1 до 3% по весу и более предпочтительно приблизительно до 2% от общей массы смеси.

Согласно предпочтительному воплощению этого изобретения, когда смесь содержит четыре жирных кислоты, такие как пальмитиновая кислота, олеиновая кислота, стеариновая кислота и линолевая кислота, они присутствуют в весовом соотношении приблизительно 1.6:1:1.28.0.12, соответственно. Согласно предпочтительному воплощению этого изобретения, когда смесь содержит пять жирных кислот, таких как пальмитиновая кислота, олеиновая кислота, стеариновая кислота, линолевая кислота и альфа-линоленовая кислота, они присутствуют в весовом соотношении приблизительно 1.9:1.35:0.5:0.75:0.5, соответственно.

Согласно предпочтительному воплощению этого изобретения, когда смесь согласно этому изобретению содержит восемь жирных кислот, таких как пальмитиновая кислота, олеиновая кислота, стеариновая кислота, линолевая кислота, альфа-линоленовая кислота, гамма линоленовая кислота, эйкозапентаеновая кислота и докозагексановая кислота, они присутствуют в весовом соотношении приблизительно 2.4:0.96:0.96:1.44:0.96:0.16:0.64:0.48 соответственно.

Согласно дальнейшему предпочтительному воплощению заявленного изобретения, когда смесь согласно этому изобретению содержит девять жирных кислот, таких как пальмитиновая кислота, олеиновая кислота, стеариновая кислота, линолевая кислота, альфа-линоленовая кислота, гамма линоленовая кислота, эйкозапентаеновая кислота, докозагексановая кислота и азелаовая кислота, они предпочтительно присутствуют в весовом соотношении приблизительно 2.25:1.26:1.08:1.80:0.72:0.36:0.63:0.72:0.18 соответственно.

Удивительно, было отмечено, что при подборе сочетания вышеупомянутых жирных кислот, в особенности четыре, пять, восемь, или девяти жирных кислот согласно этому изобретению, представилось возможным установить контроль клеток, вовлеченных в воспалительные процессы, такие как тучные клетки, макрофаги, базофилы и лимфоциты. У этой системы администрации жирных кислот есть два важных преимущества:

1) более быстрый и реактивный ответ на гиперстимуляцию, вызванную воспалительным агентом: мембранные липиды в клетке не истощаются, таким образом приводя к временной дисперсии;

2) значительные энергосбережения: клетка не расходует энергию для восстановления липидов из

мембран с дальнейшей их заменой. Действительно, было замечено, что, обеспечивая сочетание жирных кислот согласно этому изобретению, получают улучшенный контроль воспалительного процесса и физиологические условия, а нормальные условия включенной микроокружающей среды восстановлены за более краткое время, все относительно предшествующего уровня техники.

Дальнейший объект данного изобретения является фармацевтической, косметической, и/или диетической композицией, включающей вышеупомянутую смесь и по крайней мере один физиологически приемлемый эксципиент. Физиологически приемлемый эксципиент согласно этому изобретению является любым наполнителем, известным специалисту в данной области техники, используемой в подготовке фармацевтических и/или косметических композиций. Другие эксципиенты обычно классифицируются согласно функции, которую они выполняют в готовом составе. Предпочтительные подходящие эксципиенты согласно этому изобретению включают, например, разжижители, абсорбенты, глиданты, связывающие вещества, лубриканты, сурфактанты, разрыхлители, консерванты, антиокислители или их сочетания.

Альтернативно, эксципиенты могут быть классифицированы согласно функциональной группе, существующей в их химической структуре, такой как сахар, амиды, эфиры, спирты и т.п.

Особенно предпочтительный эксципиент согласно данному изобретению представляет собой N-2-гидроксиэтил пальмитамид.

Согласно одному из практических воплощений данного изобретения, вышеупомянутая композиция включает смесь по крайней мере трех жирных кислот, отобранных из следующего: пальмитиновая кислота, олеиновая кислота, стеариновая кислота, линолевая кислота, альфа-линоленовая кислота, гамма-линоленовая кислота, эйкозапентаеновая кислота (ЭПК), докозагексановая кислота (ДГК), азелаовая кислота и миристиновая кислота, по крайней мере один фармацевтически приемлемый эксципиент.

Предпочтительно, упомянутая композиция включает смесь, содержащую от трех до десяти жирных кислот и как минимум один фармацевтически приемлемый эксципиент.

Согласно одному из практических воплощений этого изобретения, пальмитиновая кислота содержится в композиции в количестве от 5 до 45% по весу; олеиновая кислота содержится в композиции в количестве от 2 до 35% по весу; стеариновая кислота содержится в композиции в количестве от 2 до 35% по весу; линолевая кислота содержится в композиции в количестве от 1 до 40% по весу; альфа-линоленовая кислота содержится в композиции в количестве от 1 до 25% по весу; гамма-линоленовая кислота содержится в композиции в количестве от 0.5 до 10% по весу; эйкозапентаеновая кислота содержится в композиции в количестве от 1 до 20% по весу; докозагексановая кислота содержится в композиции в количестве от 1 до 25% по весу; азелаовая кислота содержится в композиции в количестве от 0.5 до 10% по весу; миристиновая кислота содержится в композиции в количестве от 0.05 до 1% по весу;

Вышеупомянутые проценты являются количествами, по весу выраженными относительно общей массы композиции.

Согласно предпочтительному воплощению этого изобретения упомянутая композиция содержит смесь, включающую четыре жирных кислоты и по крайней мере один фармацевтически приемлемый эксципиент.

Когда смесь данного изобретения включает четыре жирных кислоты, пальмитиновая кислота содержится в композиции в количестве от 2 до 40% по весу, предпочтительно от 5 до 25% по весу и более предпочтительно приблизительно до 6% от общей массы композиции.

В вышеупомянутой композиции олеиновая кислота содержится в количестве от 1 до 35% по весу, предпочтительно от 2 до 10% по весу, и более предпочтительно приблизительно до 4% от общей массы композиции.

В вышеупомянутой композиции стеариновая кислота содержится в количестве от 0.5 до 15% по весу, предпочтительно от 2 до 10% по весу и более предпочтительно приблизительно до 5% от общей массы композиции.

В вышеупомянутой композиции линолевая кислота содержится в количестве от 0.5 до 5% по весу, предпочтительно от 1 до 3% по весу и более предпочтительно приблизительно до 1% от общей массы композиции.

Согласно предпочтительному воплощению этого изобретения, упомянутая композиция содержит смесь, включающую пять жирных кислот и по крайней мере один фармацевтически приемлемый эксципиент.

Когда смесь согласно данному изобретению включает пять жирных кислот, пальмитиновая кислота содержится в композиции в количестве от 1 до 20% по весу, предпочтительно от 3 до 10% по весу и более предпочтительно приблизительно до 6% общей массы композиции.

В вышеупомянутой композиции олеиновая кислота содержится в количестве от 1 до 15% по весу, предпочтительно от 2 до 8% по весу и более предпочтительно приблизительно до 4.5% от общей массы композиции.

В вышеупомянутой композиции стеариновая кислота содержится в количестве от 0.5 до 7%, предпочтительно от 1 до 5% по весу и более предпочтительно приблизительно до 2% от общей массы композиции.

В вышеупомянутой композиции линолевая кислота содержится в количестве от 0.5 до 10% по весу, предпочтительно от 1 до 5% по весу и более предпочтительно приблизительно до 2.5% от общей массы композиции.

В вышеупомянутой композиции альфа-линоленовая кислота содержится в количестве от 0.5 до 10% по весу, предпочтительно от 1 до 6% по весу и более предпочтительно приблизительно до 2% от общей массы композиции.

Согласно предпочтительному воплощению этого изобретения упомянутая композиция содержит смесь, включающую восемь жирных кислот и по крайней мере один фармацевтически приемлемый эксципиент.

Когда смесь данного изобретения включает восемь жирных кислот, пальмитиновая кислота содержится в композиции в количестве от 1 до 30% по весу, предпочтительно от 3 до 10% по весу и более предпочтительно приблизительно до 6% от общей массы композиции.

В вышеупомянутой композиции олеиновая кислота содержится в количестве от 1 до 25% по весу, предпочтительно от 5 до 15% по весу и более предпочтительно приблизительно до 10% от общей массы композиции.

В вышеупомянутой композиции стеариновая кислота содержится в количестве от 1 до 25% по весу, предпочтительно от 5 до 15% по весу и более предпочтительно приблизительно до 10% от общей массы композиции.

В вышеупомянутой композиции линолевая кислота содержится в количестве от 0.2 до 10% по весу, предпочтительно от 0.7 до 5% по весу и более предпочтительно приблизительно до 1% от общей массы композиции.

В вышеупомянутой композиции альфа-линоленовая кислота содержится в количестве от 0.2 до 6% по весу, предпочтительно от 0.5 до 4% по весу и более предпочтительно приблизительно до 1% от общей массы композиции.

В вышеупомянутой композиции гамма-линоленовая кислота содержится в количестве от 0.04 до 3% по весу, предпочтительно от 0.2 до 1% по весу и более предпочтительно приблизительно до 0.5% от общей массы композиции.

В вышеупомянутой композиции эйкозапентаеновая кислота содержится в количестве от 1 и 15% по весу, предпочтительно от 2 до 6% по весу и более предпочтительно приблизительно до 3% от общей массы композиции.

В вышеупомянутой композиции докозагексановая кислота содержится в количестве от 0.5 до 7% по весу, предпочтительно от 1 до 4% по весу и более предпочтительно приблизительно до 2% от общей массы композиции.

В дальнейшем предпочтительном воплощении этого изобретения, упомянутая композиция содержит смесь, включающую девять жирных кислот и по крайней мере один фармацевтически приемлемый эксципиент.

Когда смесь согласно данному изобретению включает девять жирных кислот, пальмитиновая кислота содержится в композиции в количестве от 1 до 30% по весу, предпочтительно от 3 до 10% по весу и более предпочтительно приблизительно до 7% от общей массы композиции.

В вышеупомянутой композиции олеиновая кислота содержится в количестве от 1 до 25% по весу, предпочтительно от 5 до 15% по весу и более предпочтительно приблизительно до 10% от общей массы композиции.

В вышеупомянутой композиции стеариновая кислота содержится в количестве от 1 до 25% по весу, предпочтительно от 5 до 15% по весу и более предпочтительно приблизительно до 10% от общей массы композиции.

В вышеупомянутой композиции линолевая кислота содержится в количестве от 0.2 до 6% по весу, предпочтительно от 0.5 до 3% по весу и более предпочтительно приблизительно до 1% от общей массы композиции.

В вышеупомянутой композиции альфа-линоленовая кислота содержится в количестве от 0.2 до 6% по весу, предпочтительно от 0.5 до 4% по весу и более предпочтительно приблизительно до 1% от общей массы композиции.

В вышеупомянутой композиции гамма линоленовая кислота содержится в количестве от 0.04 до 3% по весу, предпочтительно от 0.2 до 1% по весу и более предпочтительно приблизительно до 0.5% от общей массы композиции.

В вышеупомянутой композиции эйкозапентоевая кислота содержится в количестве от 1 до 15% по весу, предпочтительно от 2 до 6% по весу и более предпочтительно приблизительно до 3% от общей массы композиции.

В вышеупомянутой композиции докозагексановая кислота содержится в количестве от 0.5 до 7% по весу, предпочтительно от 1 до 4% по весу и более предпочтительно приблизительно до 2% от общей массы композиции.

В вышеупомянутой композиции азелаиновая (азелаовая) кислота содержится в количестве от 0.05 до 2% по весу, предпочтительно от 0.2 до 1% по весу и более предпочтительно приблизительно до 0.5%

от общей массы композиции.

Композиция согласно данному изобретению может быть сформулирована в форме, подходящей для перорального, локального, ректального, вагинального, глазного, или парентерального введения.

В предпочтительном воплощении этого изобретения упомянутая пероральная форма может быть выбрана из таблеток, капсул, гранул, масляных капсул, растворов, суспензий, носителей или аэрозольных растворов, и более предпочтительно выбрана из капсул, таблеток или растворов.

Капсула может быть мягкой желатиновой капсулой, твердой капсулой или капсулой, содержащей гранулы.

Согласно дальнейшему предпочтительному воплощению этого изобретения, упомянутая форма для локального нанесения может быть выбрана из крема, мази, геля, раствора, суспензии, спрея, пластыря или лиофилизированного гранулированный порошок, более предпочтительно выбрана из крема, геля, спрея, мази и лиофилизированного гранулированного порошка.

Согласно дальнейшему предпочтительному воплощению этого изобретения, упомянутая форма, подходящая для вагинального введения, является пессарием, катетером, гелем или раствором для внутриполостного использования.

Согласно дальнейшему предпочтительному воплощению этого изобретения, упомянутая форма, подходящая для ректального введения, является свечой, клизмой или раствором для внутриполостного использования.

Согласно дальнейшему предпочтительному воплощению этого изобретения, упомянутая форма, подходящая для глазного введения, является глазными каплями, раствором, кремом или мазью.

Термин "раствор" понимают как раствор для промывания глаз.

Согласно другому предпочтительному воплощению этого изобретения, упомянутая форма, подходящая для парентерального введения, может быть или водным буферным раствором или масляной суспензией, и предпочтительно, чтобы парентеральная форма представляла собой масляную суспензию.

Согласно дальнейшему предпочтительному воплощению этого изобретения, вышеупомянутая композиция является дермокосметической композицией, фармацевтическим веществом, биологически активной добавкой или препаратом.

Смесь жирных кислот в данном изобретении предпочтительно содержится в вышеупомянутых формах в количестве, которое варьируется от 10 до 60% по весу и предпочтительно от 15 до 45% от общей массы формы.

Согласно одному из воплощений этого изобретения композиция по данному изобретению, содержащая смесь четырех жирных кислот, предпочтительно сформулирована в форме для локального применения.

Согласно одному из воплощений этого изобретения композиция согласно данному изобретению, содержащая смесь пяти жирных кислот, предпочтительно сформулирована в форме для локального применения или пероральной форме.

Согласно одному из воплощений этого изобретения композиция согласно данному изобретению содержащая смесь восьми жирных кислот, предпочтительно сформулирована в пероральной форме, и более предпочтительно в форме таблеток или форме суспензии.

Упомянутая композиция, содержащая смесь восьми жирных кислот, предпочтительно сформулирована в парентеральной форме или в ректальной форме.

Согласно дальнейшему воплощению этого изобретения, композиция изобретения содержащая смесь девяти жирных кислот, сформулирована в пероральной форме, более предпочтительно в форме таблеток или форме суспензии или в форме для локального применения, и более предпочтительно в кремовой форме, форме геля или форме мази.

В вышеупомянутой устной форме, содержащей упомянутую смесь девяти жирных кислот, азелаовая кислота содержится в количестве от 0.04 до 0.5% по весу, предпочтительно от 0.08 до 0.4% по весу и более предпочтительно приблизительно до 0.2%.

В вышеупомянутой форме для локального применения, содержащей упомянутую смесь девяти жирных кислот, азелаовая кислота содержится в количестве от 0.05 до 2% по весу, предпочтительно от 0.2 до 1% по весу и более предпочтительно приблизительно до 0.5%.

Согласно изобретению композицию по данному изобретению можно вводить людям, как взрослым, так педиатрической группе (термин "педиатрическая группа" принят как пациенты от рождения до восемнадцати лет) и животным. Дальнейший объект данного изобретения является смесью, содержащей по крайней мере три жирных кислоты, предпочтительно от трех до десяти жирных кислот, и более предпочтительно четыре, пять, восемь, или девять жирных кислот и/или композицией, содержащей упомянутую смесь для использования в лечении воспалительных патологий.

Вышеупомянутые воспалительные патологии имеют острый или хронический характер и включают: дерматологические патологии, такие как атопический дерматит, дерматомиозит, склеродерма, псориаз, полимиозит, пузырчатка, пемфигоидный буллезный эпидермолиз; глазные патологии, такие как синдром Сегрена, симпатическая офтальмия, увеит и увеоретинит; патологии слизистой оболочки, такие как воспаление желудочно-кишечных слизистых оболочек (болезнь Крона) и воспаление ротовой и половой

слизистых оболочек; суставные и соединительно-тканные патологии, такие как ревматоидный артрит, псориатический артрит, артрит красной волчанки и дискоидная и системная красная волчанка; хронические патологические воспаления, такие как хронический солнечный дерматит, астма, кишечный и легочный фиброз, а также хронический артрит, дегенеративные патологии, затрагивающие периферийную нервную систему (ПНС) и центральную нервную систему (ЦНС), такие как рассеянный склероз, аутоиммунные нейродегенеративные патологии, неаутоиммунные нейродегенеративные патологии, воспалительные процессы, связанные с ЦНС, например, болезнь Паркинсона, старческое слабоумие, бактериальный менингит, ВИЧ-инфекция и травматические повреждения и патологии ПНС, такие как радикулопатия, вызванная воспалением; патологии центральной и периферийной нервной системы, где воспалительные процессы следуют за первым ишемическим расстройством, таким как невропатии из-за компрессии, а также травмирующих невропатий, мозговых ударов и черепных травм; кардиологические болезни вследствие перфузии в результате ишемических ран; воспалительные патологии, связанные с фиброзом, таким как аллергический конъюнктивит, гигантский папиллярный конъюнктивит, диетические аллергии, неправильное заживление, такие как гипертрофический шрам, келоиды и глазной рубцовый пемфигоид; патологии, при которых нарушена почечная функция в результате воспаления почек. Что касается введения животным композиции согласно данному изобретению, местное и/или системное противовоспалительное действие, проявленное сочетанием жирных кислот, полезно в лечении нейрогенного воспаления (например, компрессия спинного мозга, повреждения нервов у собак), суставные и соединительные патологии, такие как ламинит у лошадей (когда применение препаратов кортизона не возможно), артрит, дыхательные патологии, глазное воспаление, сухой кератоконьюнктивит, и аллергические воспалительные расстройства, включая пищевые аллергии.

Композицию согласно заявленному изобретения предпочтительно вводят ежедневно, людям и животным, от одной до четырех доз в день. Упомянутая доза предпочтительно содержит от 0.1 до 50 мг композиции/кг веса тела пациента, и более предпочтительно от 0.5 до 20 мг/кг веса тела пациента. Согласно предпочтительному воплощению данного изобретения, упомянутую композицию вводят в течение по крайней мере четырех недель.

Экспериментальная часть

Примеры

Приготовили следующие смеси согласно данному изобретению.

Пример 1.

Эйкозапентаеновая кислота (ЭПК) в пределах от 0.5 до 15%.
Докозагексаеновая кислота (ДГК) в пределах от 0.5 до 15%.
Пальмитиновая кислота в пределах от 0.5 до 35%.
Олеиновая кислота в пределах от 0.5 до 35%.
Стеариновая кислота в пределах от 0.5 до 15%.
Гамма-линоленовая кислота в пределах от 0.5 до 15%.
Альфа-линоленовая кислота в пределах от 0.5 до 15%.
Азелаовая кислота в пределах от 0.5 до 35%.
Линолевая кислота в пределах от 0.5 до 35%.

Пример 2.

Эйкозапентаеновая кислота (ЭПК) в пределах от 3 до 10%.
Докозагексаеновая кислота (ДГК) в пределах от 3 до 10%.
Пальмитиновая кислота в пределах от 10 до 35%.
Олеиновая кислота в пределах от 0.5 до 35%.
Стеариновая кислота в пределах от 0.5 до 9%.
Гамма-линоленовая кислота в пределах от 0.5 до 10%.
Альфа-линоленовая кислота в пределах от 0.5 до 10%.
Азелаовая кислота в пределах от 0.5 до 20%.
Линолевая кислота в пределах от 0.5 до 35%.

Пример 3.

Эйкозапентаеновая кислота (ЭПК) в пределах от 0.5 до 15%.
Докозагексаеновая кислота (ДГК) в пределах от 0.5 до 15%.
Пальмитиновая кислота в пределах от 1 до 35%.
Олеиновая кислота в пределах от 0.6 до 35%.
Стеариновая кислота в пределах от 0.3 до 15%.
Гамма-линоленовая кислота в пределах от 0.5 до 20%.
Альфа-линоленовая кислота в пределах от 0.5 до 35%.
Азелаовая кислота в пределах от 0.5 до 35%.
Линолевая кислота в пределах от 0.5 до 35%.

Пример 4.

Эйкозапентаеновая кислота (ЭПК) в пределах от 2 до 12%.
Докозагексаеновая кислота (ДГК) в пределах от 2 до 12%.

Пальмитиновая кислота в пределах от 10 до 45%.
Олеиновая кислота в пределах от 1 до 35%.
Стеариновая кислота в пределах от 0.5 до 25%.
Гамма-линоленовая кислота в пределах от 0.5 до 10%.
Альфа-линоленовая кислота в пределах от 0.5 до 30%.
Азелаовая кислота в пределах от 0.5 до 20%.
Линолевая кислота в пределах от 3 до 35%.
Пример 5.
Эйкозапентаеновая кислота (ЭПК) в пределах от 35 до 24%.
Докозагексаеновая кислота (ДГК) в пределах от 3 до 24%.
Пальмитиновая кислота в пределах от 10 до 40%.
Олеиновая кислота в пределах от 15 до 35%.
Стеариновая кислота в пределах от 0.5 до 40%.
Гамма-линоленовая кислота в пределах от 0.5 до 25%.
Альфа-линоленовая кислота в пределах от 0.5 до 20%.
Азелаовая кислота в пределах от 0.5 до 25%.
Линолевая кислота в пределах от 0.5 до 35%.
Пример 6.
Эйкозапентаеновая кислота (ЭПК) в пределах от 1 до 20%.
Докозагексаеновая кислота (ДГК) в пределах от 3 до 12%.
Пальмитиновая кислота в пределах от 1 до 30%.
Олеиновая кислота в пределах от 2 до 15%.
Стеариновая кислота в пределах от 0.5 до 15%.
Гамма-линоленовая кислота в пределах от 0.5 до 15%.
Альфа-линоленовая кислота в пределах от 0.5 до 20%.
Азелаовая кислота в пределах от 0.5 до 10%.
Линолевая кислота в пределах от 5 до 35%.
Пример 7.
Эйкозапентаеновая кислота (ЭПК) в пределах от 0.5 до 12%.
Докозагексаеновая кислота (ДГК) в пределах от 0.5 до 12%.
Пальмитиновая кислота в пределах от 0.5 до 45%.
Олеиновая кислота в пределах от 10 до 35%.
Стеариновая кислота в пределах от 0.5 до 10%.
Гамма-линоленовая кислота в пределах от 0.5 до 20%.
Альфа-линоленовая кислота в пределах от 0.5 до 20%.
Азелаовая кислота в пределах от 0.5 до 10%.
Линолевая кислота в пределах от 0.5 до 15%.
Пример 8.
Эйкозапентаеновая кислота (ЭПК) в пределах от 1 до 12%.
Докозагексаеновая кислота (ДГК) в пределах от 1 до 12%.
Пальмитиновая кислота в пределах от 0.5 до 25%.
Олеиновая кислота в пределах от 10 до 35%.
Стеариновая кислота в пределах от 0.5 до 10%.
Гамма-линоленовая кислота в пределах от 0.5 до 15%.
Альфа-линоленовая кислота в пределах от 0.5 до 15%.
Азелаовая кислота в пределах от 0.5 до 10%.
Линолевая кислота в пределах от 2 до 35%.
Пример 9.
Пальмитиновая кислота 14%.
Линолевая кислота 12%.
Олеиновая кислота 15%.
Стеариновая кислота 14%.
Альфа-линоленовая кислота 15%.
Гамма-линоленовая кислота 0.5%.
Азелаовая кислота 0.5%.
Эйкозапентаеновая кислота (ЭПК) 14%.
Докозагексаеновая кислота (ДГК) 15%.
Пример 10.
Пальмитиновая кислота 20%.
Линолевая кислота 10%..
Олеиновая кислота 15%
Стеариновая кислота 7%.

Альфа-линоленовая кислота 10%.

N-2-гидроксиэтил пальмитат (ГЭП) 38%.

In vitro анализ противовоспалительной активности

Противовоспалительная активность смеси, содержащей девять жирных кислот (см. пример 9), идентифицированная как AS66, была оценена посредством двух экспериментальных тестов:

1. Тест на жизнеспособность MTT для определения самой высокой нецитотоксической дозы.

2. Оценка способности смеси уменьшить выпуск противовоспалительных посредников (IL-6 и IL-8) человеческой клеточной линией макрофагов, предварительно сенсибилизированной с LP.

Экспериментальный план

In vivo воспалительная реакция является результатом сложного процесса, определенного ответом различных популяций клеток в различных участках человеческого тела. Упрощая, мы можем различить следующие стадии: внешняя агрессия (бактериальная или другая), действительно ли сопровождаемый реальным повреждением тканей, высвобождением провоспалительных посредников, отзывом компетентных клеток, производством антител, устранением антигена, активацией процесса восстановления и исцеления. Моноциты и макрофаги являются ответственными клетками в естественных и в приобретенных иммунных ответах. Макрофаги существуют в фактически каждой ткани в теле и показывают удивительную морфологическую разнородность в различных тканях. Моноциты являются переносимыми кровью предшественниками макрофагов.

В случае инфекции, повреждения ткани или другой раны, большое количество моноцитов вовлекаются от кровотока в место повреждения и дифференцируются в соответствующий фенотип макрофагов (см. фиг. 2).

Макрофаги являются также важными модуляторами множества иммунных ответов посредством секреции большого массива цитокинов и хемокинов. Среди посредников, произведенных моноцитами/макрофагами, в этом исследовании, были выбраны один цитокин (Интерлейкин 6) и один хемокин (Интерлейкин 8). Интерлейкин 8 (IL-8) был выбран для его ключевой роли в основном воспалительном ответе. Он постоянно вырабатывается различными популяциями клеток (моноциты/макрофаги, Т лимфоциты, эндотелиальные клетки, нейтрофилы, кератиноциты, фибробласты и хондроциты), что позволяет ему выполнять важную роль в "наблюдении" и наблюдении за "чрезвычайной ситуацией" в тканях. Интерлейкин 6 (IL-6) был выбран, потому что является типичным для последней фазы воспалительной реакции.

IL-6 является гликопротеином 26 килодальтонов, вырабатывается не постоянно, он синтезируется в ответ на другие воспалительные посредники, а именно, "ранние", такие как IL-8, IL-1α и ФНО, также именуемые основными цитокинами воспалительного ответа.

IL-6 играет роль как во врожденной (неспецифической), так и в гуморальной (специфической) иммунной реакции. Во врожденном иммунитете стимулирует производство белков острой фазы клетками печени, которые ответственны за появление признаков системной аллергической реакции, и стимулирует созревание нейтрофилов из незрелых предшественников в костном мозгу. В специфическом гуморальном ответе стимулирует быстрое увеличение клонов лимфоцитов В, которые производят антитела, определенные для аллергена, который вызвал реакцию.

Клеточная модель

Учитывая центральную роль моноцитов/макрофагов в установленном иммунном ответе клетки и их роль в модуляции воспалительного ответа в этом исследовании, выбрали клеточную линию моноцитов человека под названием THP-1 (Острая моноцитарный лейкоз человека). Эти клетки имеют рецепторы Fc и C3b, являются фагоцитарными и растут в суспензии, которая не налипает на стенки культурального флакона.

Клетки были куплены в Istituto Zooprofilattico della Lombardia Эмилия-Романья (территория Брешиа - Италия) и гарантированно свободны от загрязнений микоплазмы и бактерий.

Материалы и методы

Воспалительную реакцию в клетках THP-1 индуцировали путем введения в раствор липополисахарида (ЛПС), известный воспалительный агент, извлеченный из E. coli грамм-микроорганизм, при концентрации 1 мкг/мл в течение двух часов.

Питательная среда: RPMI 1640, с добавкой глутамина 2 мМ, 10% фетальной телячьей сыворотки, неосновных аминокислот, 2-меркаптоэтанола (0.05 мм) и антибиотики, смешивают Пенициллин 2000 МЕ/мл, Стрептомицин 1000 МЕ/мл, Фунгизон 2 мкг/мл (Евроклон).

MTT Основной раствор: 5 мг/мл в воде. (Sigma-Aldrich).

MTT Рабочий раствор: 1 мг/мл в 1640 RPMI.

Буфер для сенсибилизации поверхностей: натрий-фосфатный буфер (НФБ).

Буфер испытания: НФБ с Альбумином Бычьей Сыворотки (АБС) 4%.

Отмывочный буфер: 50 мм Трис, Твин на 0.2% 20.

Раствор тетраметилбензидинового субстрата ТМБ.

Стоп-реагент: 0.18 М H_2SO_4.

1. Определение самой высокой нецитотоксической дозы.

В целом, первым нецитостатическим выбором дозы является доза, в которой остаточный % жизнеспособности клетки не отличается больше чем на 15% от жизнеспособности отрицательного контроля.

День 1. Посев клеток.

После проверки жизнеспособности клеток в культуре, их собрали и центрифугировали (10 мин при 900 об/мин), полученный шарик затем ресуспендировали в подходящем объеме 1640 RPMI, клетки подсчитали при помощи электронного счетчика (Scepter - Millipore). После этого, подготовили суспензию клеток плотностью 400.000 клеток/мл. Эта суспензия была распределена в 24-микролуночном планшете в 2:1 мл суспензии на лунку (400.000 клеток / лунку). Затем планшет поместили в инкубатор при 37°C и в атмосфере, обогащенной 5%-м CO_2 до следующего дня (20-22 ч).

День 2. Подготовка образца.

1 г образца (смесь по примеру 9) взвесили и ресуспендировали в объеме этанола, достаточного для получения окончательной концентрации 5 мг/мл. Из этого основного раствора выполнили серию разбавлений (2×) от 2 мг/ мл до 0.312 мг/ мл в среде RPMI с 5%-м ФСБ.

Инокуляция образца: после проверки состояния и плотности клеток, отобранных в день 1, из каждой лунки, собрали объем 0.5 мл питательной среды, которая была позже заменена равным объемом 2× типовых растворов, ранее подготовленных. Инокулировали 6 различных доз образца: от 1 мг/мл и 5 дополнительных двойных разбавлений из маточного раствора в среде с 5%-м ФБС. Плашет поместили в инкубатор при 37°C и в атмосфере, обогащенной 5%-м CO_2 на 20-22 ч. Отрицательный контроль состоит из клеток, высеянных в питательную среду с 100% жизнеспособностью.

День 3.

После проверки жизнеспособности и плотности клеток, выставленных в образце, было выполнено определение жизнеспособности MTT.

Определение жизнеспособности MTT.

MTT является солью тетразолия, которая, в своей окисленной форме, является растворимой и желтой по цвету. Преобразовывается в свою редуцированную форму соли формазан цитоплазматическими и митохондриальными дегидрогеназами (сукцинат дегидрогеназы), в данной форме, соль является нерастворимой и выпадает в осадок в виде багрянисто-синих кристаллов. Добавление изопропилового спирта делает растворимыми кристаллы, формируя фиолетовый раствор, сила которого, оцененная считкой спектрофотометром 540 нм ±30, пропорциональна количеству живых клеток, существующих на момент выполнения теста.

Инокулят был удален и заменен равным объемом раствора MTT.

Плашки были помещены в инкубатор на три часа. В конце инкубационного периода соль была удалена и заменена равным объемом изопропилового спирта. Затем после 5 мин встряхивания, измерили оптическую плотность спектрофотометром 570 нм (±30 нм) (Victor X5-Perkin-Elmer).

На основе анализа результатов, образцы с концентрацией 0.1, 0.06 и 0.03 мг/мл были отобраны для противовоспалительного теста.

2. Оценка противовоспалительной деятельности.

День 1. Посев клеток.

После проверки жизнеспособности клеток в культуре, их собрали и центрифугировали (10 минут при 900 об/мин), полученный шарик затем ресуспендировали в подходящем объеме 1640 RPMI, клетки подсчитали при помощи электронного счетчика (Scepter - Millipore).

После этого, подготовили суспензию клеток плотностью 400.000 клеток/мл. Эта суспензия была распределена по чашкам Петри: 3 мл суспензии клеток/мл (1.200.000 клеток/плашку). Затем чашки поместили в инкубатор при 37°C и в атмосфере, обогащенной 5%-м CO_2 до следующего дня (20-22 ч).

День 2.

Подготовка образца:

1 г порошка (смесь по Примеру 9) взвесили и ресуспендировали в объеме этанола, достаточном для получения окончательной концентрации 5 мг/мл. Из этого основного раствора приготовили три разбавления (2×): 0.2, 0.12 и 0.06 мг/мл в среде RPMI с 5%-м ФСБ.

Контроль качества (КК).

Контроль качества осуществили с использованием раствора Locoidon 0.1% в 1 мг/мл, известный противовоспалительный продукт, содержащий кортизол. Раствор было подготовлен в среде RPMI 1640 с 5%-м ФСБ.

Положительный контроль.

Положительный контроль было представлен клетками, экспонированными в раствор ЛПС 1 мкг/мл.

Индукция воспалительной реакции: после ночи культурирования, плашки извлекли и примерно половину культуральной среды заменили равным объемом раствора ЛПС 2 мкг/мл (окончательная концентрация 1 мкг/мл). Экспонирование с ЛПС продолжалось два часа.

Инокуляция образца.

В конце времени инкубирования с ЛПС, после проверки жизнеспособности клеток, раствор ЛПС заменили равным объемом различных доз предварительно подготовленного образца. Плашки затем по-

местили в инкубатор при 37°C и в атмосфере, обогащенной 5% CO_2 еще на 20-22 ч.

День 3.

После проверки жизнеспособности обработаных клеток, клеточную суспензию собрали в 1.5 мл трубки и центрифугировали (1000 г на 10 мин). Затем провели твердофазный иммуноферментный анализ для оценки концентраций IL-6 и IL-8 в культуральной среде.

Наконец, с целью исключения ложно-позитивных ответов, т.е. предотвращения трактования недостатка живых и жизнеспособных клеток как противовоспалительного эффекта, после центрифугирования, клетки подвергли тесту на жизнеспособность MTT.

Результаты

Процент выживания клеток:

$$\% \text{ жизнеспособности} = [(ОП_{образца} / ОП_{отрицат.контроля}) \times 100],$$

где % ингибирования жизнеспособности = 100 - % жизнеспособности;

ОП: оптическая плотность;

$ОП_{образца}$: оптическая плотность, полученная из клеток, экспонированных в образце;

$ОП_{отрицат.контроля}$: оптическая плотность, полученная из клеток, экспонированных только в культуральной среде (100% жизнеспособность).

Оценка уровней IL-6 и IL-8, секретированных в культуральной среде.

Противовоспалительная эффективность:

$$\text{IL-8 \% ингибирование} = (100 - (\text{пг/мл IL-8}_{образца}/\text{пг/мл IL-8}_{положит.контроля}) \times 100),$$

где пг/мл $IL\text{-}8_{образца}$: пг/мл IL-8, секретированных клетками, экспонированными в растворе ЛПС и затем в различных разбавлениях образца;

пг/мл $IL\text{-}8_{положит.контроля}$: пг/мл IL-8,секретированных клетками, экспонированными только в растворе ЛПС.

$$\text{IL-6 \% ингибирование} = (100 - (\text{пг/мл IL-6}_{образца}/\text{пг/мл IL-6}_{положит.контроля}) \times 100),$$

где пг/мл $IL\text{-}6_{образца}$: пг/мл IL-6, секретированных клетками, экспонированными в растворе ЛПС и затем в различных разбавлениях образца пг/мл $IL\text{-}6_{положит.контроля}$: пг/мл IL-6, секретированных клетками, экспонированными только в растворе ЛПС.

Критерии приемлемости теста.

Тест отвечает критериям приемлемости способа, если уравнение регрессионной линии стандартной (калибровочной) кривой имеет коэффициент детерминации (R2)≥0.8(от 0.8 до 1).

Коэффициент вариации необработанных данных должен составлять <20%.

Значение p (T тест): <0.05.

а) IC_{50}.

IC_{50}= 0.8 мг/мл (см.фиг. 3).

Таблица 1

Camp.AS66		
мг/мл	% жизнеспособности	% ингибирования жизнеспособности
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
отрицат.контроль	100,00	0,00

IC_{50} соответствует дозе образца, которая убивает 50% клеток в период инкубирования.

б) IL-8.

Таблица 2

Стандартная кривая IL8	
пг/мл	ОП av
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

Стандартная кривая IL-8 и процент ингибирования IL-8 представлены на фиг. 4.

Таблица 3

AS66 + ЛПС	пг/мл IL8	% ингибирования IL8
AS66 + 0,1 мг/мл	900,0769	16,116
AS66 + 0,06 мг/мл	860,2308	19,829
AS66 + 0,03 мг/мл	517,4615	51,744
Отрицат.контроль	0	100
Положит.контроль	1073	0
Качеств.контроль	663,4615	38,168

в) IL-6

Таблица 4

Стандартная кривая IL6	
пг/мл	ОП av
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

Стандартная кривая IL-6 и процент ингибирования IL-6 представлены на фиг. 5.

Таблица 5

AS66 + ЛПС	пг/мл IL6	% ингибирования IL6
AS66 + 0,1 мг/мл	270,5909	42,422
AS66 + 0,06 мг/мл	328,5909	30,080
AS66 + 0,03 мг/мл	156,5	66,699
Отрицат.контроль	0	100
Положит.контроль	469,9545	0
Качеств.контроль	0	100,000

Как можно заметить, ни одна из проверенных доз не показала цитотоксическое действие, достаточное для искажения результата оценки противовоспалительной деятельности протестированного образца AS66 (смесь по примеру 9).

Все дозы образца AS66 оказалось были в состоянии ингибировать высвобождение обоих проанализированных цитокинов.

Выполненные тесты определили максимальную эффективную дозу, эквивалентную 0.03 мг/мл: при этой концентрации противовоспалительная деятельность AS66 определяет ингибирование высвобождения IL-6 и IL-8, равного 51 и 66.7% соответственно.

Другими словами, незначительные концентрации смеси согласно данному изобретению приводят к более высокой противовоспалительной деятельности в отсутствие цитотоксических эффектов.

Те же самые два экспериментальных теста были выполнены также на составе, включающем смесь пяти жирных кислот и N-2-гидрокиэтил пальмитат (ГЭП) (см. пример 10), идентифицированный как LC88.

Как в предыдущем тесте, определили IC_{50} = 0.38 мг/мл (см.фиг. 6).

Данные, полученные относительно процента ингибирования IL-6, приведены ниже и на фиг. 7.

Таблица 6

LC88 + ЛПС	пг/мл IL8	% ингибирования IL8
LC88 0,1 мг/мл	374,95	26,342
LC88 0,06 мг/мл	414,59	18,555
LC88 0,03 мг/мл	478,14	6,072
Отриц.контроль	0	0
Положит.контроль	509,05	0
Качеств.контроль	0	0

Как это может легко заметить из вышеупомянутых данных, ни одна из доз не показала цитостатическое действие, достаточное для искажения результата оценки противовоспалительной деятельности проверенного образца. Все дозы LC88, оказалось, были способны ингибировать высвобождение IL-6 со значительным эффектом дозы/ответа.

Испытания in vivo

1. In vivo испытания на животных.

Несколько серий испытаний провели на животных для подтверждения эффективности и безопасности применения смеси согласно заявленному изобретению (см. пример 9), в частности, в контроле за развитием симптоматики патологий наружного уха домашних питомцев (кошек, собак).

В период с апреля 2013 г. по октябрь 2013 г. наблюдали за 33 питомцами (23 собаки и 10 кошек различных пород), с многочисленными патологиями наружного слухового прохода.

Собаки: 5 мастифов, 8 охотничьих, 10 терьеров.

Кошки: 10 особей, из которых 8 европейской породы и 2 сиамской породы, проживающих в двух питомниках.

Всех собак разделили по этиопатогенезу/патологии и по породам и классификации FCI (Международная кинологическая федерация).

Исследование 1: клиническое исследование на собаках, относящихся к классу 2: мастифы различных пород, страдающие от маласезии (вызванной грибком Pityrosporum)

5 собак-мастифов, возраст от 8 месяцев до 5 лет, три кобеля и две суки. При первом посещении наружный слуховой канал был отечным и эритематозным в обоих ушах с присутствием ушной серы и пло-

хого запаха. Цитология мазков ушного материала указывает на присутствие маласезии в очень большом количестве в каждом образце. Терапия обеспечивает использование ветеринарного дезинфицирующего средства для ушей на основе хлорэксидина, который будет вводиться два раза в день, утром и вечером, в течение 15 дней. При втором посещении, т.е. спустя десять дней после первого, добавили введение ушных капель, основанных на жирных кислотах, потому что рост грибков стабилизировался, но слуховой канал был все еще покрасневшим, с постоянными признаками эритемы у животного. После применения ушных капель, основанных на смеси по примеру 9, следующий контроль после 4 дней и показал нормализацию состояния наружного слухового канала без эритемы и без симптоматики у животных.

Заключения: в обычной практике по крайней мере у 40% собак должно было быть усиление роста грибков (Pityrosporum Ovale или Malassezia), у других 40% нормализация ткани заняла бы по крайней мере 15/30 дней и у оставшихся 20% исцеление и нормализация ткани произойдут в период 30/45 дней. Ушные капли на основе смеси по примеру 9, позволили достичь полного прекращения воспаления и исцеления в промежуток времени только 3/4 дня во всех случаях. Очень важно подчеркнуть контроль над процессом воспаления тканей, потому что этот метод позволяет избежать царапин, предотвращая таким образом усиление патологии и в итоге приводя к очень быстрому выздоровлению.

Исследование 2: клинические случаи у собак, принадлежащих к классу 7 (охотничьи собаки): инородное тело в этиопатогенезе.

Были задействованы 8 собак, 5 сеттеров, 3 пойнтера, в возрасте от 2 до 5 лет, 5 кобелей и 3 суки, доставленных в ветеринарную лечебницу с жалобами на повреждения в одном из ушей.

В наружном слуховом проходе было обнаружено инородное тело, после удаления которого, осмотра барабанной перепонки на целостность и очищения слухового прохода собакам вводили ушной препарат на основе смеси по примеру 9 в течение 5 дней, дважды в день утром и вечером в поврежденное ухо. По истечении 5 дней лечения на контрольном осмотре было констатировано полное восстановление тканей и исчезновение эритемы.

Заключения: в обычной практике у 30% животных развилась бы обширная инфекция с последующим лечением антибиотиками, у 40% наблюдалось бы устойчивое воспаление в течение как минимум 20/30 дней после удаления инородного тела, а выздоровление заняло бы от 30 до 40 дней, у остальных 30% животных нормализация состояния через 20 дней. С использованием в постоперационный период после удаления инородного тела ушных капель с основой на жирных кислотах, воспаление контролировали, что позволило добиться полного восстановления тканей в течение 4/5 дней, избегая начала обширного воспаления.

Исследование 3: клинические случаи у собак, принадлежащих классу 3, терьеры, в этиопатогенезе атопический дерматит, аллергии и гормональные изменения.

10 собак, 5 белых высокогорных терьеров, 3 Джек Рассел терьеров, 2 йоркширских терьера, в возрасте от 1 до 10 лет, 7 сук и 3 кобеля.

Все животные страдали аллергическим дерматитом, атопическим дерматитом с симптоматическим отитом. У некоторых собак (5) при посещении выявлен выпот с кусочками кожи во внешней ушной раковине. Им назначили введение смеси согласно примеру 9 как уникальное терапевтическое средство. Результаты были ошеломляющими; всего за 3 дня ситуация значительно улучшилась до состояния почти нормальной кожи, что позволило осуществить углубленное исследование с отоскопом.

Заключения: отит вследствие аллергического дерматита довольно распространен у 15% популяции собак. Уникальное использование смеси согласно данному изобретению позволило избавиться от патологии с нормализацией состояния тканей в очень кратковременный промежуток времени 3/4 дня.

Исследование 4: клинические случаи у европейских и сиамских кошек: в этиопатогенезе ушные инфекции, вызванные паразитами 10 кошек, 8 европейских и 2 сиамских, 7 самок и 3 самцов стерилизованных, в возрасте от 6 месяцев до 5 лет, которых доставили на прием с отитом, показал паразитную природу. У всех кошек выявлен обильный материал в обоих наружных слуховых проходах с присутствием клещей и тяжелого зуда, и 3 из них страдали от ото гематомы. К терапии с препаратом Salamectina, был добавлен продукт на основе жирной кислоты для тканей, нормализующей состояние в оптимальные сроки 2/3 дни.

Заключения: у 70% животных при тех же самых патологических состояниях отек и зуд сохранялись бы в течение многих дней до 20/30 дней, обуславливая таким образом дальнейшую травму тканей, уже воспаленных. Введение смеси согласно примеру 9 позволила достичь нормализации состояния тканей в очень короткое время, устраняя эритему и процесс воспаления и зуд. Заключение по результатам исследований:

Мы наблюдали очень быстрое избавление от патологий вплоть до исчезновения симптоматики в очень короткое время. Смесь согласно заявленному изобретению нужно таким образом считать действенным терапевтическим инструментом для контроля развития воспалительных процессов разнообразных этиологии и патологий, поражающих внешнее ухо домашних животных.

Эти результаты были подтверждены дальнейшим клиническим исследованием периофтальмического крема, основанного на смеси по примеру 9, для лечения домашних животных с периофтальмическими патологиями, все случаи излечения, которые были зафиксированы в исследовании и о соответствующих

патологиях более подробно изложено в табл. 7 далее по тексту.

Таблица 7

	пол	Возраст	Патология
2 перса	м/ж	18 мес/3 года	аллергический коньюнктивит
1 рэгдолл	м	5 лет	блефарит
2 бирманца	ж/ж	2 года/7 лет	коньнктивит
1 вислоухий шотландец	м	10 лет	постсептический коньюнктивит
1 балиец	ж	2 года	блефарит
1 американская жесткошерстная	ж	4 года	постоперационная патология
3 бульдога	м/м/ж	15 мес/3 года/5 лет	вывих
2 йоркширских терьера	ж/ж	5 лет/12 лет	кератоконьюнктивит
1 шинцу	м	4 года	вывих
1 мастиф	м	5 лет	коньюнктивит
1 бернадинец	ж	20 мес	коньюнктивит
2 шарпей	ж/ж	15 мес/20 мес	постоперационное воспаление
2 мопса	м/м	1 год/5 лет	кератоконьюнктивит

Все собаки и кошки получили лечение с использованием офтальмического крема на основе смеси согласно завленному изобретению, симтоматический статус исчез в среднем за 5 дней (от 3 до 9 дней), средняя периодичность нанесения дважды в день.

Периофтальмический крем на основе 9 жирных кислот показал эффективность в контроле за развитием симптоматики воспаления смешанного генеза на веках кошек и собак.

2. In vivo испытания на людях.

Нижеследующие данные относятся к сравнительному исследованию препаратов GutLife и EvaLife вагинального крема, в каждом содержится смесь согласно заявленному изобретению и гидроксиэтил пальмитат для введения пациентам, проходящим химио- и радиотерапию с диагнозом "Плоскоклеточный базальный рак ануса/анального канала". Данное исследование проводилось в Центре Онкологии Саутгемптона.

До недавнего времени было доступно ограниченное количество продуктов, востребованных при лечении данной части пациентов для уменьшения побочных кожных реакций, возникающих при прохождении лучевой терапии. GutLife и EvaLife (pH сбалансированы для женщин) представляют собой кремы, содержащие смесь согласно заявленному изобретению (см. пример 10) и которые можно использовать для лечения изменений кожи/слизистых (зуд, ощущение жжения, краснота, отек и сверхчувствительность) в анальной и перианальной области у пациентов, проходящих радио- или химиотерапию. GutLife представляет собой крем для нанесения в анальной и перианальной области, применяемый пациентами как мужского, так и женского полов. EvaLife специально предназначен для женщин для использования в области около влагалища и вульвы, pH сбалансирован для более комфортного применения.

1. Исследования.

Предполагается провести испытания GutLife и EvaLife для оценки их полезных свойств для пациентов и подтвердить снижение случаев госпитализации у данной группы пациентов. В исследовании используется шкала RTOG для оценки кожных реакций, в соответствии с рекомендациями Общества Рентгенологов и практическим опытом специалистов Центра Онкологии Саутгемптона. Результаты еженедельно фиксировались клиницистом и/или рентгенологом-колоноскопистом. Оценку по шкале RTOG и шкале болевого синдрома применяли у четырех пациентов (двое мужчин и две женщины) в качестве контрольной группы, в сравнении со 2-й группой, которая использовала продукцию GutLife и EvaLife. Оценку провели в аналогичном порядке еженедельно в период проведения терапии пациентам. Результаты систематизированы и приведены в таблице.

Дозировки.

Фаза I: 30.6 Гр на МПД (эталонная точка МКРЕ) в 17 фракциях.

Фаза II: 19.8 Гр на 100% в конформной плокости (эталонная точка МКРЕ) в 11 ежедневных фракциях.

Максимальная доза 107%, минимальная 95% в планируемом лечебном объеме мишени (ПОМ).

Или: 19.8 Гр на МПД в 11 ежедневных фракциях в параллельных противоположных полях.

2. Сопутствующая химиотерапия.

Пациентам назначили сопутствующую химиотерапию через ПВЦК (периферически вводимый центральный катетер) с амбулаторным режимом.

Митоцин С 12мг/м^2 IV bolus Say 1 (макс 20 мг).

5-Флуорацил 1000 мг/м^2/день постоянное непрерывное вливание в течение 1-4 дня (неделя 1) и 29-32 дня (неделя 5).

Химиотерапию провели до применения первого курса лучевой терапии.

Оценку реакции кожных покровов по шкале RTOG использовали в соответствии с рекомендациями Общества Рентгенологов (см.табл. 8).

Таблица 8

RTOG 0	RTOG 1	RTOG 2A	RTOG 2B	RTOG 3
Видимые кожные изменения отсутствуют	Слабая или летучая эритема	Безболезненная или ярко-вараженная эритема	Пятнистая влажная десквамация, влажная эдема	Сливающаяся влажная десквамация

Пациенты проходили курс радикальной лучевой терапии с диагнозом “Плоскоклеточный базальный рак ануса/анального канала" с сопутствующей химиотерапией с апреля 2012 г. по апрель 2013 г. в Центре Онкологии Саутгемптона.

В данный период лечение прошли 28 женщин и 11 мужчин - пациентов.

Из данных, полученных в течение более 12 месяцев, лечение прошли 39 пациентов, из которых было 6 подтвержденных госпитализаций по поводу побочных кожных реакций вследствие радиотерапии, 4 женщины и 2 мужчин.

Таблица 9. Результаты у пациентов с раком анального канала (контрольная группа)

	Контрольная Группа			
	Пациент A Мужчина	Пациент B Мужчина	Пациент C Женщина	Пациент D Женщина
Максимальный показатель RTOG	3 (зафиксировано на неделе 4)	3 (зафиксировано на неделе 5)	3 (зафиксировано на неделе 6)	3 (зафиксировано на неделе 5)
Локализация	Мошонка, анус, промежность, паховая область	Мошонка, анус, промежность, паховая область	Пери анальный паховая область	Влагалище, анус, промежность, паховая область
Максимальный показатель болевого	8	6	7	8
синдрома (1-10)				
Крем на водной основе	Да	Да	Да	Да
Использование геля Purilon	Нет	No	Да	Да
Использование пластырей Jelonet	Нет	Да	Да	Да
Лекарственные препараты	Ибупрофен, ко-кодамол + ораморф	Ораморф, Зоморф.	Парацетамол, Ибупрофен, местное применение морфина и ораморф	Парацетамол, Ибупрофен, местное применение морфина и ораморф

Таблица 10. Результаты у пациентов с раком анального канала (испытуемая группа)

	GutLife и EvaLife			
	Пациент 1 Мужчина	Пациент 2 Мужчина	Пациент 3 Женщина	Пациент 4 Женщина
Максимальный показатель RTOG	3 (зафиксировано на неделе 6)	2b (зафиксировано на неделе 6)	2b (зафиксировано на неделе 5)	3 (зафиксировано на неделе 5)
Локализация	Анус, паховая область + мошонка	Анус + мошонка	Анус, промежность + паховая область	Анус, промежность + паховая область
Максимальный показатель болевого синдрома (1-10)	5	5	4	7
GutLife/EvaLife	GutLife	GutLife	GutLife и EvaLife	GutLife и EvaLife
Общее количество использованных туб GutLife/EvaLife	6 GutLife	7 GutLife	5 EvaLife 4 GutLife (итого 9)	4 EvaLife 4 GutLife (итого 8)
Использование геля Purilon	Нет	Нет	Нет	Да
Использование пластырей Jelonet	Нет	Нет	Да	Да
Лекарственные препараты	Кодеин + ораморф	Трамадол (артрит) + парацетамол	Парацетамол	Парацетамол, ко-кодамол, ораморф + местное применение морфина

3. Обобщенные результаты.

Вследствие ограниченного выпуска GutLife и EvaLife, продукция была доступна для использования только четырем пациентам. Невзирая на малочисленность пациентов, можно, тем не менее, отметить важность и достоверность полученных наблюдений и результатов.

Максимальный показатель по шкале RTOG у всех пациентов в контрольной группе составил 3, в сравнении с двумя пациентами с показателем 3 (1 мужчина, 1 женщина), использовавшими GutLife и EvaLife; также, самый высокий показатель по шкале RTOG у пациентов, использовавших GutLife/EvaLife проявляется позднее в течения периода лечения, в сравнении с контрольной группой. На основе этих данных, можно сделать вывод об упреждающем характере действия GutLife и EvaLife.

Явственно просматривается резкий контраст между максимальными показателями болевого синдрома в контрольной группе и группе GutLife/EvaLife. Максимальный показатель болевого синдрома в контрольной группе зафиксировали на уровне 8 (у двух пациентов) с самым низким показателем, равным 6 (зафиксирован у 1 пациента), в сравнении с самым высоким показателем, равным 7, в испытуемой группе (зафиксирован у 1 пациента), самый низкий болевой показатель, зафиксированный в испытуемой группе, равен 4.

Одного пациента в контрольной группе перевели на стационарное лечение вследствие кожных реакций, развившихся в период терапии. Одного пациента в испытуемой группе также перевели на стационарное лечение, но не из-за кожных реакций.

В результате данного ограниченного исследования пациенты, которые использовали крем GutLife и EvaLife, лучше реагировали на кожные реакции, вызванные лучевой терапией, чем пациенты контрольной группы, сообщив, в среднем, о снижении болевого синдрома, более низком максимальном показателе по шкале RTOG, а также о более позднем начале реакции кожи с задержкой вплоть до последних двух недель лечения. Основываясь на этих благоприятных результатах консультанты радиотерапии по раку анального канала окажут поддержку в проведении более масштабного многофакторного исследования и/или включат крем GutLife и EvaLife, который будет использоваться для обычного ухода за кожей больных раком анального канала, проходящих курс радиотерапии в Центре Онкологии Саутгемптона.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Смесь для лечения воспалительных процессов, состоящая из девяти жирных кислот, одна из которых является азелаовой кислотой, а остальные выбраны из пальмитиновой, олеиновой, стеариновой, линолевой, альфа-линоленовой, гамма-линоленовой, эйкозапентаеновой (ЭПК), докозагексановой (ДГК) кислоты, причем содержание пальмитиновой кислоты в вышеупомянутой смеси находится в пределах от 0,2 до 48% по весу; содержание олеиновой кислоты в вышеупомянутой смеси находится в пределах от 0,2 до 38% по весу; содержание стеариновой кислоты в вышеупомянутой смеси находится в пределах от 0,2 до 42% по весу; содержание линолевой кислоты в вышеупомянутой смеси находится в пределах от 0,2 до 40% по весу; содержание альфа-линоленовой кислоты в вышеупомянутой смеси находится в пределах от 0,2 до 38% по весу; содержание гамма-линоленовой кислоты в вышеупомянутой смеси находится в пределах от 0,2 до 30% по весу; содержание эйкозапентаеновой кислоты в вышеупомянутой смеси находится в пределах от 0,2 до 25% по весу; содержание докозагексановой кислоты в вышеупомянутой смеси находится в пределах от 0,2 до 25% по весу; содержание азелаовой кислоты в вышеупомянутой смеси находится в пределах от 0,2 до 40% по весу относительно общей массы смеси.

2. Фармацевтическая композиция для лечения воспалительных процессов, содержащая смесь по п.1 и как минимум один физиологически приемлемый эксципиент.

3. Косметическая композиция для лечения воспалительных процессов, содержащая смесь по п.1 и как минимум один физиологически приемлемый эксципиент.

4. Диетическая композиция для лечения воспалительных процессов, содержащая смесь по п.1 и как минимум один физиологически приемлемый эксципиент.

5. Композиция по любому из пп.2-4, отличающаяся тем, что физиологически приемлемый эксципиент представляет собой N-2-гидроксиэтил пальмитамид.

6. Композиция по любому из пп.1-4, отличающаяся тем, что содержание пальмитиновой кислоты в вышеупомянутой композиции находится в пределах от 5 до 45% по весу; содержание олеиновой кислоты в вышеупомянутой композиции находится в пределах от 2 до 35% по весу; содержание стеариновой кислоты в вышеупомянутой композиции находится в пределах от 2 до 35% по весу; содержание линолевой кислоты в вышеупомянутой композиции находится в пределах от 1 до 40% по весу; содержание альфа-линоленовой кислоты в вышеупомянутой композиции находится в пределах от 1 до 25% по весу; содержание гамма-линоленовой кислоты в вышеупомянутой композиции находится в пределах от 0,5 до 10% по весу; содержание эйкозапентаеновой кислоты в вышеупомянутой композиции находится в пределах от 1 до 20% по весу; содержание докозагексановой кислоты в вышеупомянутой композиции находится в пределах от 1 до 25% по весу; содержание азелаовой кислоты в вышеупомянутой композиции находится в пределах от 0,5 до 10% по весу относительно общей массы смеси.

7. Композиция по пп.2-4 или 6, отличающаяся тем, что представлена в форме для перорального, локального, ректального, вагинального, глазного или парентерального введения.

8. Композиция по п.7, отличающаяся тем, что упомянутая форма для перорального введения выбрана из таблеток, капсул, гранул, масляных капсул, растворов, суспензий, носителей или аэрозольных растворов, более предпочтительно форма для перорального введения представляет собой капсулы, таблетки или растворы.

9. Композиция по п.7, отличающаяся тем, что упомянутая форма для локального введения выбрана из крема, мази, геля, раствора, суспензии, спрея, пластыря или лиофилизированного гранулированного порошка, более предпочтительно упомянутая форма для локального введения представляет собой крем, гель, спрей, мазь или лиофилизированный гранулированный порошок.

10. Композиция по п.7, отличающаяся тем, что упомянутая форма для парентерального введения является водным буферным раствором или масляной суспензией, более предпочтительно форма для парентерального введения представляет собой масляную суспензию.

11. Композиция по п.7, отличающаяся тем, что упомянутая форма для ректального введения представляет собой свечу, клизму или раствор для внутриполостного использования.

12. Композиция по п.7, отличающаяся тем, что упомянутая форма для вагинального введения представляет собой пессарий, катетер, гель или раствор для внутриполостного использования.

13. Композиция по п.7, отличающаяся тем, что упомянутая форма для глазного введения представляет собой глазные капли, раствор, крем или мазь.

14. Композиция по любому из пп.2-12, отличающаяся тем, что содержание в данной композиции смеси составляет от 10 до 60% по весу, предпочтительно от 15 до 45% относительно общей массы композиции.

15. Композиция по любому из пп.2-4, отличающаяся тем, что упомянутая композиция представляет собой дермокосметическую композицию, фармацевтическое вещество, биологически активную добавку или препарат.

16. Применение смеси или композиции по любому из пп.1-15 для лечения и/или предотвращения воспалительных патологий.

17. Применение по п.16, отличающееся тем, что упомянутые воспалительные патологии носят ост-

рый или хронический характер.

18. Применение по п.16, отличающееся тем, что упомянутые воспалительные патологии включают атопический дерматит, дерматомиозит, склеродерму, псориаз, полимиозит, пузырчатку, пемфигоидный буллезный эпидермолиз.

19. Применение по п.16, отличающееся тем, что упомянутые воспалительные патологии включают офтальмологические воспалительные патологии, представленные синдромом Сегрена, симпатической офтальмией, увеитом и увеоретинитом.

20. Применение п.16, отличающееся тем, что упомянутые воспалительные патологии включают дегенеративные патологии, затрагивающие периферийную нервную систему (ПНС) и центральную нервную систему (ЦНС), представленные рассеянным склерозом, аутоиммунными нейродегенеративными патологиями, неаутоиммунными нейродегенеративными патологиями, воспалительными процессами, связанными с ЦНС, предпочтительно, болезнью Паркинсона, старческим слабоумием, бактериальным менингитом, ВИЧ-инфекцией и травматическими повреждениями и патологиями ПНС, представленными радикулопатией, вызванной воспалением.

21. Применение по п.16, отличающееся тем, что упомянутые воспалительные патологии включают патологии центральной и периферийной нервной системы, в которых воспалительные процессы сопровождают ишемические расстройства, вызванные невропатиями из-за компрессии, травматическими невропатиями, ушибами мозга и черепно-мозговыми травмами.

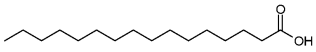
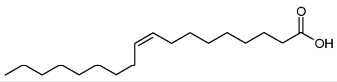
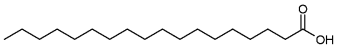
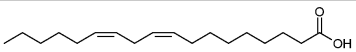
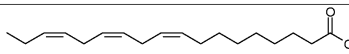
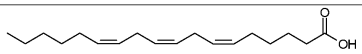
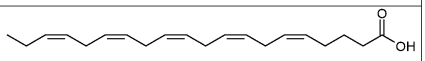
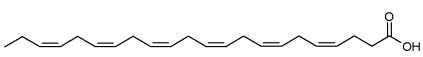
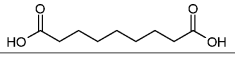
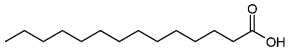
22. Применение по п.16, отличающееся тем, что лечение осуществляется введением упомянутой смеси или композиции людям или животным.

23. Применение по п.22, отличающееся тем, что введение упомянутой смеси или композиции животным осуществляют для лечения нейрогенного воспаления, суставных и соединительных патологий, представленных ламинитом у лошадей, артритом, дыхательными патологиями, глазным воспалением, сухим кератоконьюнктивитом, и аллергическими воспалительными расстройствами.

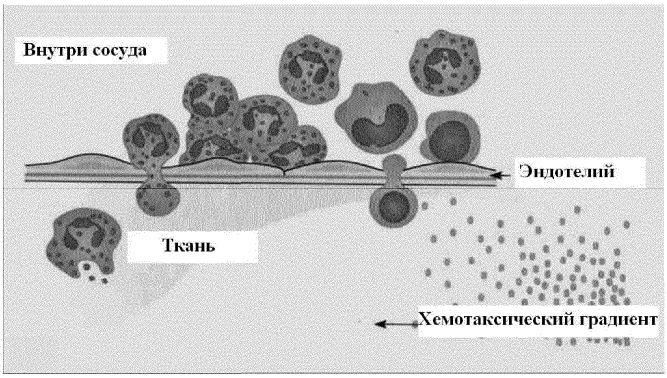
24. Применение по п.22, отличающееся тем, что введение упомянутой смеси или композиции осуществляется ежедневно в пределах от одной до четырех доз в день.

25. Применение по п.22, отличающееся тем, что введение упомянутой смеси или композиции осуществляется в течение как минимум четырех недель.

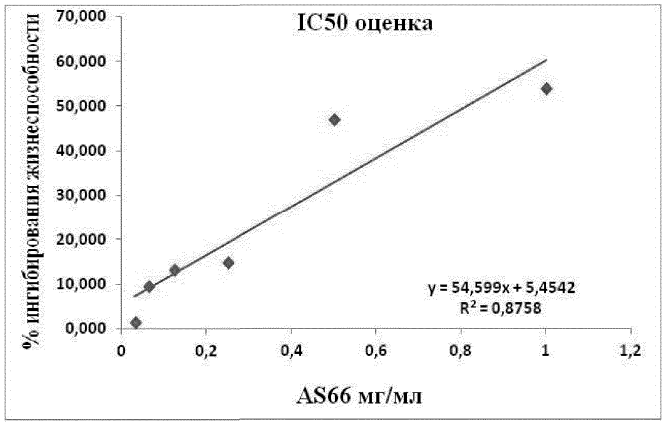
26. Применение по п.24, отличающееся тем, что упомянутая доза содержит от 0,1 до 50 мг композиции/кг веса тела пациента и более предпочтительно от 0,5 до 20 мг/кг веса тела пациента.

Наименование химического элемента	Химическое строение
Пальмитиновая кислота	
Олеиновая кислота	
Стеариновая кислота	
Линолевая кислота	
Альфа-линоленовая кислота	
Гамма-линоленовая кислота	
Эйкозапентаеновая кислота	
Докозагексановая кислота	
Азелаовая кислота	
Миристиновая кислота	

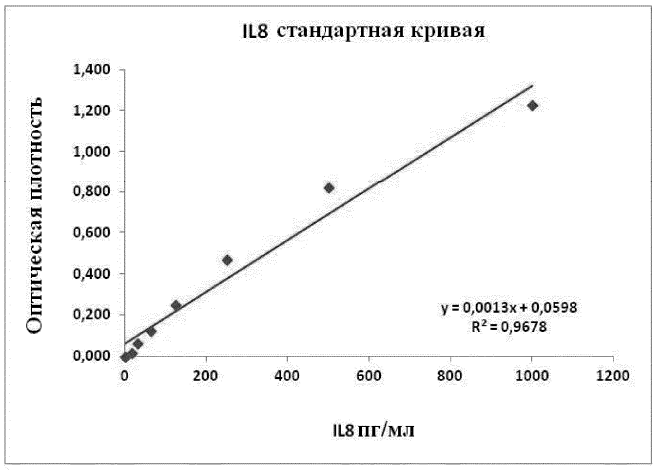
Фиг. 1

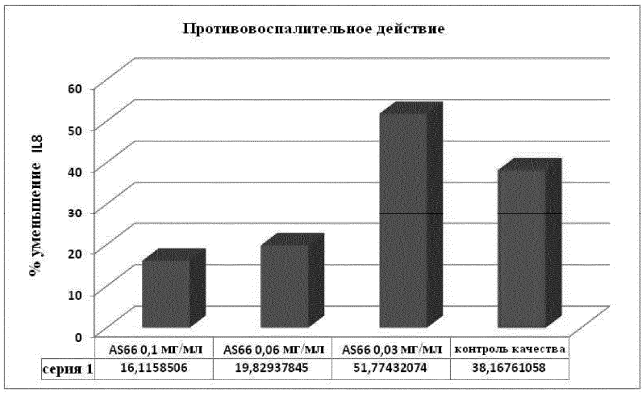


Фиг. 2

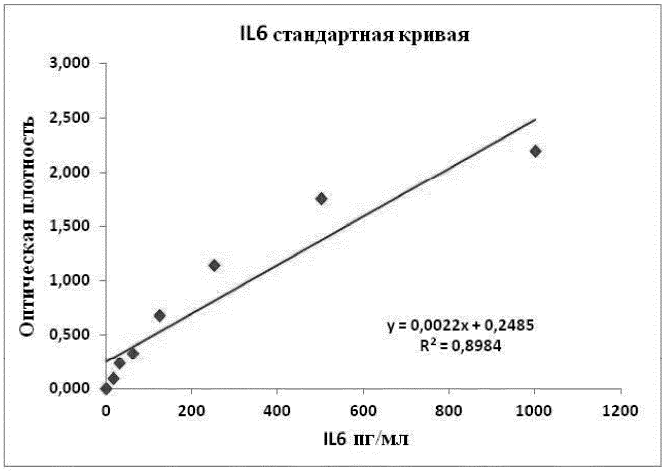


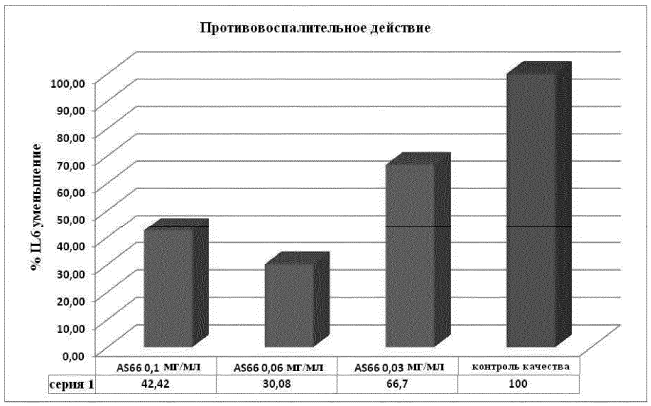
Фиг. 3



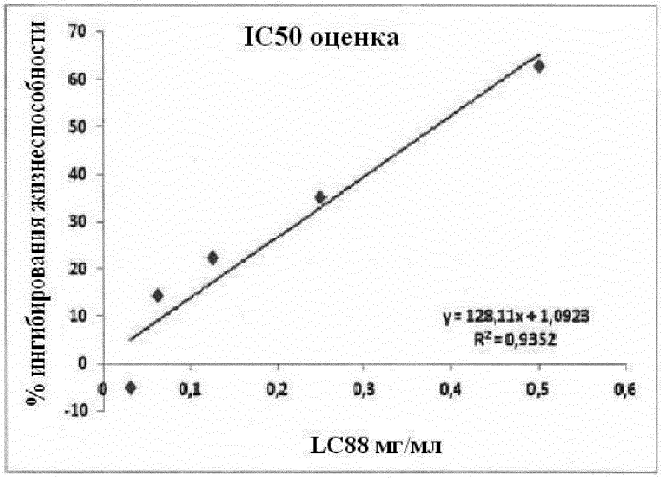


Фиг. 4

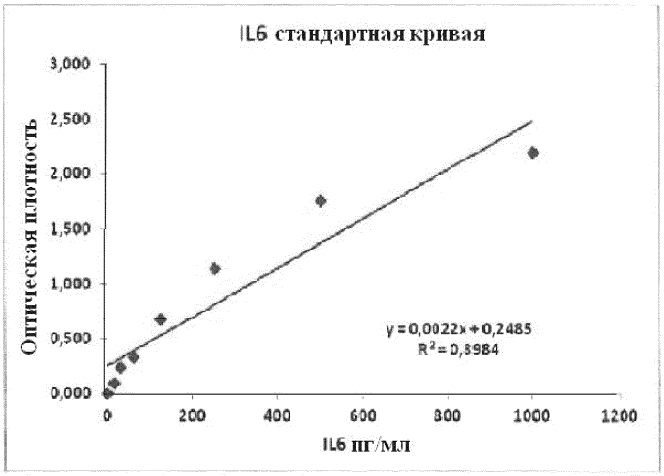

IL6 стандартная кривая
Оптическая плотность
3,000
2,500
2,000
1,500
1,000
0,500
0,000
0
200
400
600
800
1000
1200
IL6 пг/мл
y = 0,0022x + 0,2485
R² = 0,8984

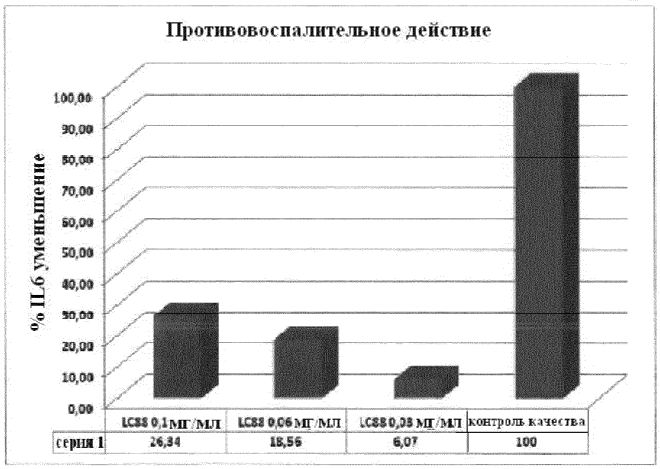

Противовоспалительное действие
% IL-6 уменьшение
100,00
90,00
80,00
70,00
60,00
50,00
40,00
30,00
20,00
10,00
0,00
AS66 0,1 мг/мл
AS66 0,06 мг/мл
AS66 0,03 мг/мл
контроль качества
серия 1
42,42
30,08
66,7
100

Фиг. 5


IC50 оценка
% ингибирования жизнеспособности
70
60
50
40
30
20
10
0
-10
0
0,1
0,2
0,3
0,4
0,5
0,6
LC88 мг/мл
y = 128,11x + 1,0923
R² = 0,9352

Фиг. 6


IL6 стандартная кривая
Оптическая плотность
3,000
2,500
2,000
1,500
1,000
0,500
0,000
0
200
400
600
800
1000
1200
IL6 пг/мл
y = 0,0022x + 0,2485
R² = 0,8984


Противовоспалительное действие
% IL6 уменьшение
100,00
90,00
80,00
70,00
60,00
50,00
40,00
30,00
20,00
10,00
0,00
LCSS 0,1мг/мл
LCSS 0,06мг/мл
LCSS 0,03 мг/мл
контроль качества
серия 1
26,34
18,56
6,07
100

Фиг. 7