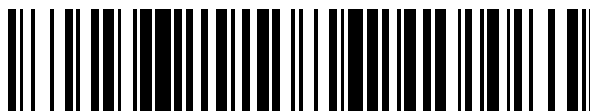


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 458 353**

51 Int. Cl.:

A61K 36/258 (2006.01)
A61K 36/16 (2006.01)
A61K 36/28 (2006.01)
A61K 31/195 (2006.01)
A61P 1/16 (2006.01)
A61P 39/02 (2006.01)
A61P 25/32 (2006.01)
A61P 25/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.10.2010 E 10782700 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.01.2014 EP 2493488**

54 Título: **Preparación que comprende aminoácidos y plantas y su actividad en la destoxificación de alcohol y en el tratamiento de la migraña**

30 Prioridad:

28.10.2009 WO PCT/IB2009/007253

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
05.05.2014

73 Titular/es:

**MODUTECH S.A. (50.0%)
Route de Moncor 2
1752 Villars-sur-Glane, CH y
HANGZHOU ADAMERCK PHARMLABS INC.
(50.0%)**

72 Inventor/es:

**QI, YOUMAO;
JIE, QING;
ZHANG, FENGMIN;
GU, YING y
YU, MEIPING**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 458 353 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

Preparación que comprende aminoácidos y plantas y su actividad en la destoxificación de alcohol y en el tratamiento de la migraña

Campo de la invención

- 5 La invención se refiere a preparaciones para fines dietéticos, de complementos alimenticios o médicos y más específicamente a una preparación o una composición que comprende aminoácidos y varios extractos de plantas y su actividad en la destoxificación de alcohol. La composición de la invención se puede utilizar en la protección de lesiones hepáticas por productos químicos, en el aumento de la tolerancia a la hipoxia, en la eliminación acelerada del contenido de etanol *in vivo* y en el aumento de la reducción y viabilidad en el medio anóxico, y en la prevención o tratamiento del dolor de cabeza o migraña.

Antecedentes de la invención

- 15 Se sabe que la L-ornitina y la citrulina están involucradas en al menos tres vías metabólicas anulares importantes en el cuerpo humano. Las tres vías metabólicas son respectivamente la circulación de urea, la circulación de ácido cítrico y la circulación de óxido nítrico. Por ingestión de L-ornitina y citrulina, puede obtenerse el mensajero biomolecular endógeno, monóxido de nitrógeno (NO), a través de la vía metabólica relacionada. El sistema circulatorio sanguíneo en el cuerpo humano no puede funcionar sin la función vasodilatadora del NO, teniendo el NO endógeno la función de ajuste y control sobre múltiples funciones fisiológicas, por ejemplo, puede ser ajustada la energía entre las sinapsis nerviosas; y puede ser ajustado el proceso de aprendizaje y memorización, etc.

- 20 El NO endógeno en el cuerpo humano es generado catalizando la L-arginina (L-Arg) para que sea descompuesta por la óxido nítrico-sintetasa (NOS). La L-Arg es una importante sustancia en el cuerpo humano, además de para la generación de NO y la participación en la síntesis de proteínas, la L-Arg es también la precursora de la urea, prolina, agmatina, poliamina y similares y puede estimular la secreción de hormonas, tales como auxina e insulina, para influir directamente en la salud del cuerpo humano. Cuando el cuerpo humano está en condiciones especiales de estrés, por ejemplo, en condición de hipoxia, el NO endógeno en el cuerpo humano es insuficiente, lo que puede causar mal de altura o malestar.

- 25 Además de los efectos de prevención y tratamiento del mal de altura y de lesiones por isquemia-reperusión y la protección del sistema cardio-cerebral-vascular y del sistema inmunitario, la L-Arg puede prolongar el tiempo de natación con carga de ratones y reducir la acumulación de ácido láctico causada por la glicólisis anaerobia, realizando por tanto la función antifatiga.

- 30 Sin embargo, debido a que la semivida de la L-arginina (L-Arg) ingerida es muy corta (sólo aproximadamente una hora) la reposición directa de arginina no puede aumentar eficazmente la concentración de arginina en la sangre y en las células.

- 35 Se sabe que la L-citrulina (L-cit) es un aminoácido no proteico y posee una pluralidad de importantes funciones fisiológicas, tales como eliminación de radicales libres, vasodilatación y estabilización de la presión sanguínea, además, la arginina (L-Arg) y el NO endógenos pueden ser generados continuamente a través de la circulación de L-cit-NO en el cuerpo humano para asegurar que el nivel endosomático de arginina sea obviamente aumentado y simultáneamente mantenerlo en un nivel básico más alto, aumentándose de ese modo la tolerancia a la hipoxia del organismo.

- 40 La L-ornitina es un aminoácido no proteico importante que existe en los tejidos y células y también es la sustancia precursora para el metabolismo de arginina, citrulina y otros aminoácidos. La L-ornitina casi participa en los procesos completos de activación del ciclo de urea y desintoxicación de amoníaco, facilita la síntesis de carbamil-fosfato-sintetasa y glutamina y aumenta la función de desintoxicación del hígado; por tanto, la L-ornitina es importante para las células hepáticas en el cuerpo humano.

- 45 El extracto seco de ginseng procede de la raíz, base y rizomas secas de *Panax ginseng* C.A Mey. o de la raíz y rizomas de ginseng rubra *Panaxoside*. El ingrediente activo principal, el extracto de ginseng, puede proteger obviamente la célula hepática de lesiones por productos químicos; experimentos en animales demostraron que el panaxósido también puede proteger la célula cerebral de la lesión por isquemia-reperusión y posee un efecto mejorador obvio en el trastorno funcional químico de la memorización y el aprendizaje en animales.

- 50 El extracto seco de ginkgo procede de *folium ginkgo* de *ginkgo biloba* L. El extracto seco de ginkgo puede prevenir el metabolismo anormal del NO reduciendo el nivel de Ca^{2+} , protege de la neurotoxicidad del glutamato, antagoniza los factores activadores de plaquetas y tiene la función protectora en el tejido cerebral con encefalopatía hipóxic-*isquémica*, protege el hígado y posee efectos de reducción de transaminasas.

- 55 La silibinina, que procede de la semilla del *Silybum marianum* (L.), es un potente eliminador de radicales libres y un inhibidor de la peroxidación de lípidos que posee efectos de destoxificación, curación y protección sobre el hígado. Las actividades de la silibinina en la potenciación enzimática y estabilización de la membrana de la célula hepática

ayuda a reducir y reparar el daño al hígado que pueden causar el alcohol, una dieta elevada en grasas, el consumo de tabaco y muchas medicinas de prescripción.

El extracto de bayas Goji (*fructus lycii*) proviene del Fructus jujubae de *Lycium barbarum* L. Las bayas Goji es la medicina china tradicional habitual, de color carmesí y sabor dulce, para la tonificación de hígado y riñón. La investigación médica moderna ha demostrado que las bayas Goji contienen betaína, polisacáridos, grasa cruda, proteína cruda, caroteno, vitamina A, vitamina C, vitamina B1, vitamina B2, calcio (Ca), fósforo (P), hierro (Fe), zinc (Zn), manganeso (Mn), ácido linoleico y otros contenidos de nutrientes. El extracto de bayas Goji promueve la función hematopoyética y posee funciones anti-envejecimiento, anti-mutaciones, anti-tumorales, anti-hígado graso y reducción del nivel de glucosa en sangre. El médico herborista utiliza frecuentemente bayas Goji para tratar la insuficiencia de Yin hepática y renal, estado doloroso y debilidad de muñecas y rodillas, vértigo, desmemoria patológica, visión borrosa, hipoxia y exceso de lacrimación, saciedad de sed, espermatorrea y otros síntomas morbosos. Para la gente que padezca una insuficiencia renal, las bayas Goji son indudablemente una clase de nutrientes para el cuidado de la salud. Las bayas Goji son la selección óptima para la preservación de la salud desde la época antigua hasta la época moderna y pose la función de prolongación de la vida.

Polifenoles de té es el término general de las sustancias polifenólicas contenidas en la hoja de té, incluyendo la clase flavanoles, clase antocianinas, clase antoxantinas, clase flavonoles, clase ácidos fenólicos y similares, en donde, la sustancia flavanol (catequina) es la más importante. Los polifenoles de té también se denominan taninos del té o taninos del té, que es el principal componente que forma el color, olor y sabor de la hoja de té y es también el principal componente que tiene la función cuidadora de la salud en la hoja de té. Los polifenoles de té poseen efectos de detoxificación y resistencia al radio y efectivamente puede bloquear que el material de radio invada la médula ósea y puede hacer que el estroncio (Sr) 90 y cobalto (Co) 60 sea descargado rápidamente del cuerpo, por ello, es denominado como Oponente Invencible a la Radiación y construye una línea defensiva para resistir la lesión por radiación para la salud del ser humano. Los polifenoles de té poseen funciones de prevención de ictus cerebral, alivio de tensión estomacal e intestinal y ayuda a la digestión y pueden eliminar los radicales libres excedentes en el cuerpo humano, inhibir la peroxidación de lípidos, aumentar la función inmunológica y retrasar la senilidad.

Algunas composiciones que comprenden hierbas y/u otras sustancias naturales son ya conocidas en la técnica anterior e incluyen, por ejemplo, las composiciones descritas en DATABASE TCM [Online] SIPO; 29 October 2003 (2003-10-29), Youmao Qi: "A pharmaceutical composition, and its usage" número de acceso a Database XP002585364 CN 1451426 o DATABASE TCM [Online] SIPO; 13 October 2004 (2004-10-13), Yiguo Liu et al.: "A kind of rubber seed jelly" número de acceso a Database XP002585369 CN 1535617, así como US 2005/01 9427 A1 o DATABASE TCM [Online] SIPO; 26 January 2005 (2005-01-26), Jinxue Cheng: "Oral functional Chinese medicine intensified by snake, bee, macroelement and microelement and its preparation" número de acceso a Database XP002585371 CN 1569123. Algunas otras composiciones están descritas en DATABASE TCM [Online] SIPO; 23 November 2005 (2005-11-23), Yimin Lin: "A product used for relieving alcoholic intoxication and protecting liver and its preparation method" número de acceso a Database XP002585357 CN 1698879, así como WO 99/61 038 A1; DATABASE TCM [Online] 3 December 1997 (1997-12-03), Xiaolin Xia: "Composite of zinc containing compound and glutaminase/A pharmaceutical composition for the treatment of peptic ulcer" número de acceso a Database XP002585373 CN 1166320, así como DE 19929993 A1 o DATABASE TCM [Online] 29 July 1998 (1998-07-29), Dahan Industry Corp.: "Hepatoprotective wine and process for preparation thereof" número de acceso a Database XP002585383 CN 1188800.

Sin embargo, aún existe la necesidad de una composición segura y eficaz para el tratamiento o alivio de la intoxicación por alcohol y para el tratamiento de la migraña.

Sumario de la invención

La presente invención es definida por las reivindicaciones.

Los solicitantes han descubierto de modo sorprendente que la preparación de acuerdo con la invención muestra un potencial interesante en la detoxificación de alcohol. Esta preparación natural segura es particularmente prometedora en la protección del hígado de lesiones por productos químicos, en el aumento de la tolerancia a la hipoxia y en la rápida disminución hasta la eliminación del contenido de alcohol en sangre.

Simultáneamente se potencian y fortalecen múltiples funciones y efectos de la preparación de acuerdo con la invención. La preparación de la invención puede evitar la lesión hepática alcohólica y puede reducir rápidamente el contenido de etanol en el cuerpo humano. En la actualidad, beber es una costumbre social y también un hábito de vida tradicional, habiendo cada vez más gente con hígado graso o hepatocirrosis resultante de la ingesta excesiva o a largo plazo. Al mismo tiempo, conducir bebido es también un tipo de comportamiento peligroso. Después de que se administra la preparación de la invención por vía oral en el tiempo correspondiente, puede obtenerse un efecto médico extraordinario para aliviar los fenómenos de embriaguez y resaca.

Además, debido a la acción sinérgica mutua entre todos los componentes de la preparación de la invención, los fenómenos de falta de resistencia, fatigabilidad, inestabilidad emocional, envejecimiento e insomnio pueden superarse eficazmente y se fortalece la adaptabilidad a la contaminación medioambiental, competición intensiva,

ritmo de vida tenso, funcionamiento cerebral excesivo, estructura dietética desequilibrada y otros aspectos.

5 En un aspecto de la presente invención se proporciona una preparación que comprende la combinación de una composición (a) que contiene aminoácidos que consisten en citrulina e hidrocloreuro de ornitina y/o sus sales farmacéuticamente aceptables y una composición (b) que contiene una mezcla de ginseng o extracto de ginseng, extracto de hoja de ginkgo biloba y extracto de silibinina, opcionalmente con un excipiente apropiado.

En otro aspecto, la presente invención proporciona un complemento alimenticio o dietético, una preparación alimenticia, una bebida y un medicamento que comprende la preparación de la presente invención.

En un aspecto adicional, la preparación de la presente invención se proporciona para uso en un método de tratamiento o prevención de intoxicación por alcohol.

10 Aún en otro aspecto, la presente invención proporciona su uso en un método para tratar o prevenir la intoxicación por alcohol, lesiones hepáticas por productos químicos, tolerancia a la hipoxia, eliminación acelerada del contenido de etanol *in vivo* y aumento de la reducción y viabilidad en el medio anóxico.

Aún en otro aspecto, la preparación se proporciona para uso en un método de tratamiento o prevención del dolor de cabeza o migraña.

15 Descripción detallada de la invención

Como se utilizan en la presente memoria, se proporcionan las siguientes definiciones para facilitar el entendimiento de la presente invención.

El término "comprende" se utiliza en general en el sentido de incluir, es decir permitir la presencia de una o más características o componentes.

20 Como se utiliza en la parte descriptiva y en las reivindicaciones, las formas singulares "un", "una" y "la", "el" incluyen referencias plurales a menos que el contexto claramente indique lo contrario.

El término "extracto", como se utiliza en la presente memoria incluye cualquier preparación obtenida a partir de plantas, frutas o vegetales utilizando un método de extracción.

25 El término "preparación alimenticia" se refiere en general al material de cualquier origen vegetal o animal, o de fuentes sintéticas, que contiene nutrientes esenciales, tales como carbohidratos, proteínas, grasas, vitaminas, minerales, etc., utilizados en el cuerpo de un organismo para mantener el crecimiento, la reparación y los procesos vitales y para proporcionar energía.

30 Un "complemento dietético o alimenticio" se refiere a un producto que contiene sustancias como vitaminas, minerales, alimentos, productos botánicos, aminoácidos y está destinado a complementar la ingesta habitual de estas sustancias. Los complementos dietéticos se encuentran en forma de píldora, comprimido, cápsula, polvo o líquido y se entiende que han de ser ingeridos por la boca.

35 El término "producto nutracéutico" se refiere a cualquier sustancia que es un alimento o parte de un alimento y proporciona beneficios médicos o de salud, incluyendo la prevención y tratamiento de enfermedades. Dichos productos pueden variar de nutrientes aislados, complementos dietéticos y dietas específicas hasta alimentos diseñados por ingeniería genética, productos herbáceos y alimentos procesados tales como cereales, sopas y bebidas. También se refiere a un producto aislado o purificado a partir de alimentos y vendido en general en formas medicinales no asociadas usualmente al alimento y que demuestra tener un beneficio fisiológico o proporciona protección contra enfermedades, como por ejemplo enfermedades crónicas.

40 El término "bebida" significa un líquido para beber, que puede ser agua, agua aromatizada, bebidas sin alcohol, bebidas alcohólicas, bebidas dietéticas o una bebida enriquecida a base de un producto lácteo (leche) o zumo de frutas.

45 "Excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables" son cualquier material que no interfiera con la actividad farmacológica del(de los) ingrediente(s) activo(s) ni degrade las funciones corporales del sujeto al que se le puede administrar pero que facilite la fabricación de las formas de dosificación o administración de la composición. Los ejemplos de excipiente farmacéuticamente aceptable incluyen, aunque sin limitación, maltodextrina, fosfato de calcio y sílice fundida. Los excipientes farmacéuticamente aceptables también incluyen aromatizantes, así como diversos aditivos, tales como otras vitaminas y minerales, todos los disolventes, medios de dispersión, revestimientos, agentes isotónicos y de retardo de la absorción, edulcorantes y similares, sustancias auxiliares no tóxicas, tales como agentes humectantes o emulsionantes, agentes tamponadores de pH y similares, tales como
50 por ejemplo, acetato de sodio, monolaurato de sorbitán, oleato de trietanolamina, e ingredientes inertes, tales como talco y estearato de magnesio, que son excipientes estándar en la fabricación de comprimidos, cápsulas y otras formas de dosificación.

Como se utiliza en la presente memoria los términos "sujeto" o "paciente" son bien conocidos en la técnica y se utilizan en forma intercambiable en la presente memoria para referirse a un mamífero, que incluye perro, gato, rata, ratón, mono, vaca, caballo, cabra, oveja, cerdo, camello y, mucho más preferiblemente, un ser humano. En algunas realizaciones, el sujeto es un sujeto con necesidad de tratamiento o un sujeto con una enfermedad o trastorno. Sin embargo, en otras realizaciones, el sujeto puede ser un sujeto normal. El término no denota una edad o sexo particular. De este modo, se pretende abarcar los sujetos adultos o recién nacidos, ya sean hombre o mujer.

El término "una cantidad eficaz" se refiere a una cantidad necesaria para obtener un efecto fisiológico. El efecto fisiológico puede lograrse mediante una dosis de aplicación o mediante aplicaciones repetidas. La dosificación administrada puede, por supuesto, variar dependiendo de factores conocidos, tales como las características fisiológicas de la composición particular; la edad, la salud y el peso del sujeto; la naturaleza y el grado de los síntomas; la clase de tratamiento concurrente; la frecuencia de tratamiento; y el efecto deseado y puede ser ajustada por una persona experta en la técnica.

Los solicitantes han estudiado plantas específicas y diversos aminoácidos y su potencial aplicación en la destoxificación de alcohol. De modo sorprendente se encontró que la administración de la preparación de acuerdo con la invención entre otras actividades biológicas inesperadas reduce drásticamente el contenido de alcohol en sangre en el cuerpo.

La acción sinérgica de la preparación de acuerdo con la invención parece estar separada por cualquier otra acción farmacológica (véanse los Ejemplos).

La presente invención proporciona una preparación que comprende la combinación de una composición (a) que contiene aminoácidos que consisten en citrulina e hidrocloreuro de ornitina y/o sus sales farmacéuticamente aceptables y una composición (b) que contiene una mezcla de ginseng o extracto de ginseng, extracto de hoja de ginkgo biloba y extracto de silibinina, opcionalmente con un excipiente apropiado.

Los "productos de degradación de aminoácidos" son aminoácidos que pueden experimentar una degradación inicial que elimine el grupo amino, bien sea por transaminación o bien sea por oxidación. El ion amonio se recupera y recicla formando otro aminoácido o eliminándose. También se puede recuperar el esqueleto carbonado obtenido después de la eliminación del grupo amino para sintetizar el correspondiente aminoácido o como un precursor para la síntesis de carbohidratos (en el caso de glicofomas de aminoácidos) o ser convertido en acetil-CoA para la síntesis de ácidos grasos (es decir ácidos grasos cetógenos).

También abarcadas por la definición de los términos derivados de citrulina y/o hidrocloreuro de ornitina están sus sales farmacéuticamente aceptables. De acuerdo con la presente invención, las sales farmacéuticamente aceptables se producen a partir de compuestos ácidos inorgánicos u orgánicos o compuestos alcalinos inorgánicos u orgánicos. Como se usa en la presente memoria, la frase "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a una sal que retiene la eficacia biológica de los ácidos y bases libres de un compuesto especificado y que no es biológicamente o de otro modo indeseable. Las sales farmacéuticamente aceptables de los aminoácidos de acuerdo con la invención son sales de adición de ácidos con ácidos farmacéuticamente aceptables.

Una sal deseada se puede preparar por cualquier método adecuado conocido en la técnica, incluyendo el tratamiento de la base libre con un ácido inorgánico, tal como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y similares, o con un ácido orgánico, tal como ácido fórmico, ácido acético, ácido maleico, ácido succínico, ácido mandélico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido malónico, ácido pirúvico, ácido oxálico, ácido glicólico, ácido salicílico; un ácido de piranosidilo, tal como ácido glucurónico o ácido galacturónico; un alfa-hidroxiácido, tal como ácido cítrico o ácido tartárico; un aminoácido, tal como ácido aspártico o ácido glutámico; un ácido aromático, tal como ácido benzoico o ácido cinámico; un ácido sulfónico, tal como ácido metanosulfónico, ácido p-toluenosulfónico o ácido etanosulfónico; o similares.

En la presente invención las sales amónicas preferidas se derivan de los ácidos clorhídrico, bromhídrico, metanosulfónico, acético, propiónico, benzoico, cítrico, tartárico, málico, maleico, fumárico, láctico, nítrico y fosfórico o succínico.

Generalmente, las sales se preparan haciendo reaccionar la base libre con cantidades estequiométricas o con un exceso del ácido inorgánico u orgánico formador de la sal deseada en un disolvente adecuado o varias combinaciones de disolventes. Por ejemplo, la base libre puede ser disuelta en una solución acuosa mixta del ácido apropiado y la sal ser recuperada por técnicas estándares, por ejemplo, por evaporación de la solución. Alternativamente, la base libre se puede cargar en un disolvente orgánico tal como un alcohol inferior, éteres simétricos o asimétricos que contienen 2 a 10 átomos de carbono, un éster alquílico, o sus mezclas, y similares, y luego ser tratada con un ácido apropiado para formar la sal correspondiente. La sal se recupera por técnicas de recuperación estándares, por ejemplo, por filtración de la sal deseada a partir de la mezcla, o puede ser precipitada por adición de un disolvente en el que la sal es insoluble y ser recuperada de allí.

Los Ejemplos de disolventes inorgánicos y orgánicos apropiados para llevar a cabo las diversas reacciones incluyen cualquier disolvente inorgánico u orgánico que no afecte desfavorablemente a los reaccionantes ni al producto

- 5 resultante, incluyendo disolventes halogenados, tales como cloruro de metileno, cloroformo, disolventes de éter, tales como éter dietílico, y otros disolventes, tales como tetrahidrofurano, dioxano, diglima, ciclooctano, benceno o tolueno, heptano, ciclohexano, disolventes alifáticos así como cicloalifáticos y disolventes hidrocarbonados aromáticos, agua, soluciones acuosas acidificadas, soluciones orgánicas e inorgánicas mixtas, acetato de etilo, acetato de propilo y sus mezclas.
- También abarcadas por la presente invención están las sales formadas a partir de profármacos ácidos, tales como fosfatos y compuestos alcalinos inorgánicos u orgánicos. Los cationes inorgánicos preferidos comprendidos en las sales son litio, sodio, potasio, rubidio, amonio, calcio, magnesio, zinc y manganeso. La producción de sales fosfatos está descrita, por ejemplo, en G.R. Pettit et al., *Anti-Cancer Drug Design* **16** (2001) 185-193.
- 10 Usualmente, las sales incluyen también las formadas a partir de profármacos ácidos y aminas orgánicas, incluyendo, aunque sin limitación, imidazol y morfolina. También se pueden usar sales de aminoácidos alcalinos.
- 15 Las sales preferidas de acuerdo con la invención son, por ejemplo, malato de citrulina que es una combinación del aminoácido citrulina y la sal orgánica malato: DL-malato de L-citrulina. Además la D-citrulina (1) es conocida también como: ácido (R)-2-amino-5-ureidopentanoico, la DL-citrulina (1) es conocida también como: ácido (±)-2-amino-5-ureidopentanoico, ácido DL-2-amino-5-ureidovalérico; la L-citrulina (3), hidrobromuro de L-citrulina y 7-amido-4-metilcumarina (1), es conocida también como: hidrobromuro de L-citrulina y 4-metil-7-cumarinilamida, L-citrulina-4,4,5,5-d4 (1); N-2,4-DNP-DL-citrulina (1); tio-L-citrulina (2) o monohidrocloreuro de L-citrulina. También se consideran las sales farmacéuticas de la ornitina, tales como alfa-cetoisocaproato de ornitina, alfa-cetoglutarato de ornitina (O alfa KG), hidrocloreuro de ornitina.
- 20 El término "derivados de citrulina y/o hidrocloreuro de ornitina" designa en particular los [alfa]-aminoácidos naturales, pero además incluye también sus homólogos, isómeros y análogos, estando todos los términos abarcados por la definición de derivados como se ha descrito antes. Los enantiómeros se pueden mencionar como ejemplos de isómeros. Los análogos pueden ser, por ejemplo, aminoácidos provistos de grupos protectores.
- 25 Además, puesto que un problema inherente a los péptidos naturales (en la forma L) es la degradación por proteasas naturales, los aminoácidos de la invención se pueden preparar de modo que incluyan formas D y/o sus "isómeros retro-inversos".
- Debido a la protección de la degradación por las proteasas naturales se predice una superior actividad biológica para los aminoácidos que contienen isómeros retro-inversos cuando se comparan con los análogos que no contienen isómeros retro-inversos. Además, dichos aminoácidos han demostrado presentar una mayor estabilidad y una menor inmunogenicidad [Sela M. and Zisman E., (1997) *Different roles of D-amino acids in immune phenomena. FASEB J.* 11, 449].
- 30 Los aminoácidos retro-inversos se preparan como se describe por ejemplo en Sela M. and Zisman E., (1997).
- También abarcadas por la definición de derivados están las modificaciones del "citrulina y/o hidrocloreuro de ornitina" que incluyen derivatización química *in vivo* o *in vitro*, por ejemplo acetilación o carboxilación. También están incluidas modificaciones de glicosilación, por ejemplo, las realizadas modificando los patrones de glicosilación de un aminoácido durante su síntesis y procesamiento o en posteriores etapas de procesamiento, por ejemplo, por enzimas glicosilantes o desglicosilantes en mamíferos. También están incluidas las secuencias que tengan residuos de aminoácidos fosforilados, por ejemplo, fosfotirosina, fosfoserina o fosfotreonina.
- 35 En la preparación de acuerdo con la invención, no se requiere añadir frecuentemente vehículo o vehículo farmacéuticamente aceptable ni excipientes adecuados. Sin embargo, opcionalmente se pueden añadir excipientes adecuados.
- 40 Los ejemplos de excipientes adecuados de la presente invención incluyen, aunque sin limitación, aglutinantes anti-adherentes (por ejemplo, celulosa macrocristalina, goma tragacanto o gelatina), revestimientos, disgregantes, cargas, diluyentes, suavizantes, emulsionantes, agentes aromatizantes, agentes colorantes, adyuvantes, lubricantes, agentes funcionales (por ejemplo, nutrientes), modificadores de la viscosidad, agentes de voluminosidad, deslizantes (por ejemplo, dióxido de silicio coloidal), agentes tensioactivos, agentes osmóticos, diluyentes, o cualquier otro ingrediente no activo, o sus combinaciones.
- 45 Por ejemplo, la preparación de la presente invención puede incluir materiales excipientes seleccionados del grupo que consiste en carbonato de calcio, agentes colorantes, blanqueadores, conservantes y aromatizantes, triacetina, estearato de magnesio, esteroides, aromatizantes naturales o artificiales, aceites esenciales, extractos de plantas, esencias de frutas, gelatinas y sus combinaciones.
- 50 Opcionalmente, la preparación de la presente invención puede incluir otros edulcorantes artificiales o naturales, edulcorantes de carga o sus combinaciones. Los edulcorantes de carga incluyen tanto compuestos calóricos como no calóricos. Los ejemplos no limitativos de edulcorantes de carga incluyen sacarosa, dextrosa, maltosa, dextrina, azúcar invertida seca, fructosa, jarabe de maíz con alto contenido de fructosa, levulosa, galactosa, sólidos de jarabe de maíz, tagatosa, polioles (por ejemplo, sorbitol, manitol, xilitol, lactitol, eritritol y maltitol), hidrolizados de almidón
- 55

hidrogenados, isomalta, trehalosa y sus combinaciones.

Las sustancias activas en la preparación de acuerdo con la invención, tales como la concentración de los aminoácidos o los extractos de plantas pueden variar dentro de un amplio intervalo. Es ventajoso que el peso de una sustancia activa ascienda de 1 por ciento a 90 por ciento de todas las sustancias activas en la preparación.

5 Preferiblemente, la composición (a) que contiene aminoácidos tiene una proporción en peso de citrulina e hidrocloreuro de ornitina y/o sus sales farmacéuticamente aceptables que es de 0,1 por ciento a 99 por ciento: de 99 por ciento a 0,1 por ciento, respectivamente.

10 Respectivamente, la composición (b) tiene preferiblemente una proporción en peso de ginseng o extracto de ginseng, extracto de hoja de ginkgo biloba y extracto de silibinina que es de 0,01 por ciento a 99 por ciento, de 0,01 por ciento a 99 por ciento y de 0,01 por ciento a 99 por ciento, respectivamente.

En una realización particular de la invención, la composición (a) que contiene aminoácidos comprende además aminoácidos adicionales seleccionados entre arginina, ornitina, treonina, triptófano o 5-hidroxitriptófano.

15 Preferiblemente, la relación en peso entre dichos aminoácidos añadidos y la composición (a) que contiene aminoácidos que consiste en citrulina e hidrocloreuro de ornitina y/o sus sales farmacéuticamente aceptables es de 0,0001 por ciento a 50 por ciento: de 99,9999 por ciento a 50 por ciento, respectivamente.

En un caso de la presente descripción que comprende la invención, la composición (b) comprende además extractos de plantas adicionales seleccionados entre extracto de fruta de *barbury wolfberry* y polifenoles de té.

En esta última realización, la relación en peso de la preparación de la invención comprende preferiblemente:

20 la mezcla de ginseng o extracto de ginseng entre 0,001 por ciento y 99 por ciento,
 el extracto de hoja de ginkgo biloba entre 0,001 por ciento y 99 por ciento,
 el extracto de silibinina entre 0,001 por ciento y 99 por ciento,
 el extracto de fruta de *barbury wolfberry* entre 0,0001 por ciento y 70 por ciento
 y los polifenoles de té respectivamente entre 0,0001 por ciento y 60 por ciento.

25 La preparación de acuerdo con la invención puede estar en forma de una formulación sólida, tal como cápsulas o comprimidos, o en forma de un líquido o solución oleosa. La formulación de la preparación descrita en la presente invención puede prepararse por cualquier método conocido en el campo farmacológico o de alimentos dietéticos.

30 Puede adoptarse cualquier método familiar para los expertos en la técnica, es decir, la composición preparada a partir de aminoácidos y extractos de plantas se fabrica formando una formulación sólida, tal como cápsulas y comprimidos, o una formulación líquida, tal como soluciones líquidas y oleosas para vía oral que han de ser administradas con o sin el sistema de vehículo apropiado.

Preferiblemente cada cápsula o comprimido fabricado puede contener por unidad de dosificación:

35 - 80 mg a 816 mg de citrulina o idéntica cantidad de una de sus sales,
 - 50 mg a 512 mg de ornitina o idéntica cantidad de una de sus sales,
 - 0,0001 mg a 430 mg de arginina,
 - 0,0001 mg a 310 mg de triptófano,
 - 0,0001 mg a 450 mg de 5-hidroxitriptófano,
 - 0,0001 mg a 500 mg de treonina,
 - 1 mg a 500 mg de extracto de ginseng, extracto de hoja de ginkgo biloba, extracto de silibinina o extracto de fruta de *barbury wolfberry* y,
 40 - 0,0001 mg a 250 mg de polifenoles de té.

En cuanto a la administración por vía oral para seres humanos, la dosificación recomendada de la invención puede contener, por ejemplo, la preparación de 250 mg, 500 mg, 1000 mg, 1500 mg o 2000 mg por unidad de dosificación respectivamente, pudiendo tomarse la preparación dos veces o tres veces al día, y pudiendo ajustarse la dosificación de acuerdo con la edad y el peso del usuario.

45 En el caso de un medicamento, el sistema de excipiente o vehículo adecuado también puede ser un excipiente

farmacéuticamente aceptable.

5 Los sistemas de vehículo apropiados comprenden auxiliar de flujo, tal como gel de sílice en forma de micropolvo y almidón de maíz, que puede aumentar la compresibilidad y puede prevenir la adherencia. Por ejemplo, se pueden usar hidroxipropil-celulosa, metilcelulosa, croscarmelosa sódica, diversos derivados de almidón, dióxido de silicio y cualquier otro agente disgregante que posea la función de facilitar la disgregación, tal como tilosa, carboximetil-celulosa sódica reticulada y diversos derivados de almidón.

Además, los sistemas de vehículos apropiados también pueden comprender agente anti-enrojecimiento, tal como behenato de glicerilo, que es útil para aumentar la capacidad de resistencia a la humedad.

10 Además, los sistemas de vehículos apropiados también pueden comprender lubricantes, tal como estearato de magnesio, blanco francés y similares, que poseen función de lubricación.

Preferiblemente el medicamento, el producto nutracéutico o el complemento dietético de la presente invención se administra en una dosificación entre 0,1 mg/kg al día y 1 g/kg al día.

La preparación de acuerdo con la invención se puede utilizar, en la:

- protección frente a lesiones hepáticas por productos químicos,
- 15 - aumento de tolerancia a la hipoxia,
- eliminación acelerada del contenido de etanol *in vivo* y
- aumento de la reducción y viabilidad en el medio anóxico.

20 En particular el medicamento de la invención se puede utilizar para el tratamiento o prevención de intoxicación por alcohol, así como, de lesión hepática por productos químicos, tolerancia a la hipoxia, contenido de etanol *in vivo* y aumento de la reducción y viabilidad en el medio anóxico.

25 La presente invención también proporciona un método para tratar o prevenir la intoxicación por alcohol, así como, de lesión hepática por productos químicos, tolerancia a la hipoxia, contenido de etanol *in vivo* y aumento de la reducción y viabilidad en el medio anóxico, que comprende administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad eficaz de la preparación o del medicamento de la presente invención. El sujeto que lo necesita es un mamífero, preferiblemente un ser humano.

La preparación o el medicamento se administra por vía oral, parenteral o tópica.

30 Se está destinado a la administración oral, el medicamento de la presente invención puede estar en forma, por ejemplo, de un comprimido, un comprimido oblongo, una píldora, una cápsula blanda o dura, una pastilla, un sello, un polvo dispensable, gránulos, una suspensión, un elixir, una dispersión, un líquido, o cualquier otra forma razonablemente adaptada para dicha administración. Si se destina a la administración parenteral, puede estar en forma, por ejemplo, de una solución para inyección intravenosa, intramuscular o subcutánea.

35 Las preparaciones tópicas de acuerdo con la presente invención pueden ser, aunque sin limitación, una crema, un parche, un gel, una pomada, una loción, una tintura, un spray, una crema espumosa, una composición de limpieza o una espuma. Las preparaciones tópicas de la presente invención también pueden estar en forma de una suspensión o dispersión en disolventes o sustancias grasas, o alternativamente en forma de una emulsión o microemulsión, PET-emulsiones, emulsiones múltiples, emulsiones de Pickering, hidrogeles, geles alcohólicos, lipogeles, soluciones de una o múltiples fases o una dispersión vesicular y otras composiciones habituales, que también pueden aplicarse mediante lápices, como máscaras o como sprays. Las emulsiones también pueden contener tensioactivo(s) aniónico(s), no iónico(s), catiónico(s) o anfótero(s).

40 De modo sorprendente, se ha observado que la preparación de la invención también es eficaz en el tratamiento o prevención del dolor de cabeza o migraña.

45 Una persona que sufre dolor de cabeza puede experimentar dolor en diversas zonas de la cabeza, incluyendo un retículo de nervios que se extiende sobre el cuero cabelludo y ciertos nervios en la cara, boca y garganta. Los músculos de la cabeza y los vasos sanguíneos encontrados a lo largo de la superficie y en la base del cerebro también son sensibles al dolor debido a que contienen fibras nerviosas delicadas. Los huesos del cráneo y tejidos del cerebro propiamente dicho no duelen debido a que carece de fibras nerviosas sensibles al dolor. Los extremos de estos nervios sensibles al dolor, denominados nociceptores, pueden ser estimulados por estrés, tensión muscular, vasos sanguíneos dilatados y otros desencadenantes del dolor de cabeza. Se piensa que los dolores de cabeza vasculares (tales como por ejemplo migrañas) implican la función anómala de los vasos sanguíneos del cerebro o sistema vascular; los dolores de cabeza por contracción muscular parecen implicar la apretura o tensión de los músculos faciales y del cuello; mientras los dolores de cabeza inflamatorios y de tracción son síntomas de otros trastornos, que varían desde tumor cerebral hasta ictus o infección del seno. Algunos tipos de dolor de cabeza

son señales de trastornos más graves: dolor de cabeza grave repentino; dolor de cabeza asociado a convulsiones; dolor de cabeza acompañado por confusión o pérdida de conciencia; dolor de cabeza después de un golpe en la cabeza; dolor de cabeza asociado al dolor en ojos u oídos; dolor de cabeza persistente en una persona que previamente estaba libre de dolor de cabeza; dolor de cabeza recurrente en niños; dolor de cabeza asociado a fiebre; dolor de cabeza que interfiere con la vida normal.

Los dolores de cabeza se diagnostican como dolores de cabeza vasculares, por contracción muscular (tensión), por tracción o inflamatorios.

El tipo más común de dolor de cabeza vascular es la migraña. La migraña es la afección neurológica más común en el mundo desarrollado. Afecta a alrededor del 10% de la población y es más prevalente que la diabetes, la epilepsia y el asma combinados. La migraña es más que sólo un dolor de cabeza. Puede ser una afección debilitadora que posee un impacto considerable en la calidad de vida de quienes la sufren y sus familias. Los ataques pueden ser completamente discapacitantes, forzando al que la sufre a abandonar las actividades diarias incluso hasta 3 días. Aún en los períodos libres de síntoma, los que la sufren pueden vivir temiendo del siguiente ataque. El dolor de un dolor de cabeza de tipo migraña se describe con frecuencia como una pulsación intensa o dolor punzante en una zona de la cabeza. Frecuentemente va acompañado por sensibilidad extrema a la luz y al sonido, náuseas y vómitos. La migraña es tres veces más común en mujeres que en hombres. Algunos individuos pueden predecir el comienzo de una migraña porque va precedido por alteraciones visuales del "aura" que parecen como destellos luminosos, líneas en zig-zag o una pérdida temporal de la visión. La gente con migraña tiende a tener ataques recurrentes desencadenados por una carencia de alimento o sueño, exposición a la luz o irregularidades hormonales (sólo en mujeres). La ansiedad, el estrés o la relajación después del estrés también pueden ser desencadenantes. Durante muchos años, los científicos creyeron que las migrañas estaban relacionadas con la dilatación y constricción de los vasos sanguíneos de la cabeza. Los investigadores creen ahora que la migraña es causada por anomalías heredadas en los genes que controlan las actividades de ciertas poblaciones celulares en el cerebro. Existen dos formas de abordar el tratamiento del dolor de cabeza de tipo migraña con fármacos: prevención de los ataques o alivio de los síntomas durante los ataques. Mucha gente con migraña utiliza ambos enfoques tomando medicamentos originalmente desarrollados para la epilepsia y depresión para prevenir futuros ataques, y tratando los ataques cuando suceden con fármacos denominados triptanos que alivian el dolor y restauran la función.

Después de la migraña, el tipo de dolor de cabeza vascular más común es el dolor de cabeza tóxico producido por fiebre. La neumonía, el sarampión, las paperas y la amigdalitis están entre otras enfermedades que pueden causar dolores de cabeza vasculares tóxicos graves.

Los dolores de cabeza tóxicos pueden resultar de la presencia de productos químicos extraños en el cuerpo.

Otras clases de dolores de cabeza vasculares incluyen "brotos" que causan episodios repetidos de dolor intenso y dolores de cabeza resultantes de un aumento de la presión sanguínea. Las cefaleas en brotes, denominadas por su aparición repetida en brotes durante semanas o meses aproximadamente a la misma hora del día o de la noche, comienzan como un dolor pequeño alrededor del ojo, dispersándose finalmente a ese lado de la cara. El dolor se intensifica rápidamente, forzando a la víctima a caminar de un lado a otro o, por ejemplo, mecerse en una silla. Otros síntomas incluyen una nariz taponada y moqueante y un párpado de ojo caído en un ojo rojo y lloroso. Las cefaleas en brotes duran entre 30 y 45 minutos pero el alivio que la gente siente al final de un ataque usualmente está mezclado con terror ya que esperan una recurrencia. Los brotes pueden desaparecer misteriosamente durante meses o años. Mucha gente tiene episodios de brotes durante la primavera y el otoño. En el peor caso, las cefaleas en brotes crónicas pueden durar continuamente durante años. Los ataques de brotes se pueden padecer en cualquier edad, pero usualmente comienzan entre los 20 y 40 años. A diferencia de la migraña, las cefaleas en brotes son más comunes en hombres y no son hereditarias. Paradójicamente, tanto la nicotina, que constriñe las arterias, como el alcohol, que las dilata, desencadenan cefaleas en brotes. La conexión exacta entre estas sustancias y los ataques en brotes no es conocida.

En un ejemplo de la presente descripción, no se ha informado de la supresión de depresión cortical propagada (DCP).

Por tanto, la presente invención se refiere al uso de la preparación de acuerdo con la invención para la prevención, alivio y/o tratamiento del dolor de cabeza, especialmente el dolor de cabeza crónico, tal como la migraña. Además, la presente invención se refiere al uso de la preparación de acuerdo con la invención para la prevención, alivio y/o tratamiento de todos los tipos de afecciones dolorosas asociadas y/o causadas por la DCP, tal como, aunque sin limitación, isquemia cerebral durante ictus o cirugía cardiovascular, por ejemplo, lesión traumática del cerebro, hemorragia subaracnoidea o amnesia global transitoria. Se prefiere, aunque sin limitación, el uso de la preparación de la invención para la prevención, alivio y/o tratamiento de dolor de cabeza crónico asociado y/o causado por la DCP, tal como migraña u otras formas de dolor de cabeza crónico de origen tanto central como periférico tal como por ejemplo, aunque sin limitación, cefaleas en brotes, dolor de cabeza de tipo tensión o dolores de cabeza secundarios asociados al uso de medicación, neuralgias craneales, traumatismo cerebral y trastornos vasculares o metabólicos.

Especialmente preferido es el tratamiento de la migraña aguda.

La descripción anterior será entendida más completamente con referencia a los siguientes Ejemplos.

Ejemplos

5 En los siguientes Ejemplos, los extracto de ginseng, extracto de hoja de ginkgo biloba, extracto de fruta de *barbury wolfberry* y extracto de silibinina pueden prepararse de acuerdo con los siguientes métodos.

10 **Extracto de ginseng:** se tritura ginseng rojo, se añade etanol al 70 por ciento a ocho veces la cantidad de ginseng rojo, se lleva a cabo dos veces la extracción en contraflujo y cada extracción dura tres horas, se combinan las soluciones extraídas y se realiza el secado por pulverización después de que se condense la solución extraída. Se obtiene un polvo blanco amarillento; el contenido total de ginsenósido del ginseng no puede ser menor que 80 por ciento después de ser determinado por espectrofotometría UV.

Extracto de hoja de ginkgo biloba: el extracto de hoja de ginkgo biloba se fabrica de acuerdo con el método de preparación estipulado en la Farmacopea China (Edición 2005) y de acuerdo con la Norma de Calidad de la Farmacopea China (Edición 2005).

15 **Extracto de fruta de *barbury wolfberry*:** las bayas Goji se someten a extracción después de ser calentadas con agua y el extracto se condensa después y se deposita en alcohol obteniendo una deposición; el extracto de fruta de *barbury wolfberry* se obtiene por desgrasado, desproteinización, decoloración y secado. La tasa de extracción es 1:10, 1:15, 1:20 o 1:30.

20 **Extracto de silibinina:** la capa de semillas de *silybum marianum* se incuba con acetato de etilo para extracción ultrasónica durante 3 horas antes de retirar la solución extraída y este procedimiento se repite 3 veces. El condensado se cristaliza dos veces con etanol antes de una recristalización en acetona-éter de petróleo (90:10) obteniéndose una silibinina de una concentración de 80-90%.

Ejemplo 1

Se proporciona el tiempo de supervivencia de los ratones con hipoxia por isquemia cerebral aguda usando diferentes formulaciones.

25 **Dosificación:** 800 mg/kg al día por grupo. La muestra de ensayo se prepara mediante agua bidestilada y se introduce en el estómago de forma continua por la boca durante siete días.

Método de ensayo: Los ratones son sacrificados respectivamente una hora después de la última introducción en el estómago, y se registra con un contador de segundos el tiempo transcurrido desde el sacrificio de los ratones hasta que dejan de jadear por la boca.

30

Tabla 1						
Efecto de diferentes formulaciones de la composición sobre el tiempo de supervivencia después de la hipoxia inducida por isquemia cerebral aguda en ratones						
Muestra N°	% de citrulina	% de hidrocloreuro de ornitina	% de extracto de silibinina	% de extracto de ginseng	% de extracto de hoja de ginkgo biloba	Tiempo de detención del jadeo (segundos)
1	100,0					12,6
2	67,0	33,0				12,9
3	54,4	25,6	20,0			13,2
4	54,4	25,6		20,0		14,3
5	54,4	25,6			20,0	13,4
6	54,4	25,6	10,0	10,0		16,8
7	54,4	25,6	10,0		10,0	16,5

Muestra N°	% de citrulina	% de hidrocloreuro de ornitina	% de extracto de silibinina	% de extracto de ginseng	% de extracto de hoja de ginkgo biloba	Tiempo de detención del jadeo (segundos)
8	54,4	25,6		10,0	10,0	16,2
9	54,4	25,6	10,0	5,0	5,0	17,8
10	54,4	25,6	5,0	10,0	5,0	17,5
11	54,4	25,6	5,0	5,0	10,0	16,8
12	0	0	0	0	0	12,7

Ejemplo 2

Las materias primas, el diluyente y el material auxiliar se tamizaron respectivamente con un tamiz de malla 80 antes de la preparación de la mezcla. De acuerdo con las proporciones de la formulación, se pesaron las materias primas, tales como citrulina, hidrocloreuro de ornitina, extracto de ginseng, extracto de hoja de ginkgo biloba y extracto de silibinina, y los materiales auxiliares, tales como behenato de glicerilo e hidroxipropil-celulosa, con la mitad de la cantidad de la relación de la formulación y se mezclaron durante 10 a 15 minutos y se añadió solución de etanol al 80 por ciento para preparar material blando; el material blando se transformó en partículas a través de un tamiz de malla 16; las partículas se secaron a temperatura de 60 a 65 grados; las partículas se recogieron y se cargaron con gel de sílice en forma de micropolvo como auxiliar de flujo, el lubricante estearato de magnesio y el agente disgregante hidroxipropil-celulosa restantes, y después la mezcla se mezcló uniformemente, se transformó en comprimidos y se recubrieron.

Como material de recubrimiento se utilizó el polvo de recubrimiento 85G60997 suministrado por Shanghai Lekang Coating Technology Co., Ltd. El método de preparación comprendió las siguientes etapas: se añadieron 1000 mL de agua desionizada a un vaso de laboratorio limpio abierto por la parte superior, se puso en marcha el dispositivo de agitación y se ajustó la velocidad de rotación a un valor de 100-300 rpm. En condiciones de velocidad de agitación constante, se añadieron al final lentamente en cinco minutos 180 g de material de recubrimiento. Después de la adición, se mantuvo la velocidad de agitación original y se obtuvo el líquido de recubrimiento requerido después de ser agitado durante otros 45 minutos.

Cada comprimido pesaba 600 mg y contenía 272 mg de citrulina, 128 mg de hidrocloreuro de ornitina, extracto de ginseng, extracto de hoja de ginkgo biloba, extracto de silibinina y similares.

Tabla 2

	Materias primas y materiales auxiliares/1 comprimido	Cantidad de producto (mg)
Materia prima	Citrulina	272
	Hidrocloreuro de ornitina	128
	Extracto de silibinina	50
	Extracto de ginseng	25
	Extracto de hoja de ginkgo biloba	25
Diluyente	Hidroxipropil-celulosa	45

	Materias primas y materiales auxiliares/1 comprimido	Cantidad de producto (mg)
Excipiente	Gel de sílice en forma de micropolvo	40
	Behenato de glicerilo	5
	Estearato de magnesio	10
	Etanol al 80%	10

Ejemplo 3

Se llevó a cabo el experimento de desequilibrio de ratones y los ratones que no se habían caído de la barra rotatoria en tres minutos se dividieron arbitrariamente en un grupo de control y un grupo de ensayo. Para el grupo de ensayo, se administraron 1200 mg/kg de la composición de la invención para la introducción en el estómago, mientras que para el grupo de control se administraron 1200 mg/kg de solución salina normal para la introducción en el estómago. Después de 15 minutos, a los ratones del grupo de control y del grupo de ensayo se administraron al estómago licores (*spirits*) destilados chinos al 56 por ciento, siendo la dosificación en el estómago 8 mL/kg. Los ratones del grupo de control y del grupo de ensayo se colocaron respectivamente en los instrumentos de fatiga de tipo barra rotatoria a una velocidad de 15 r.p.m. después de administrarles etanol durante 10 minutos, 30 minutos, 90 minutos y 120 minutos, disponiendo un ratón en cada instrumento, y se registró el número de ratones que no se habían caído de la barra rotatoria en tres minutos.

Conclusiones: se observó una diferencia significativa entre los dos grupos, siendo el número de ratones que no se cayeron de la barra rotatoria después de la ingesta de la composición sorprendentemente mayor que el del grupo de control.

Tabla 3

Grupo	Número de animales	Número de ratones que no se cayeron de la barra rotatoria/3 minutos			
		10 minutos	30 minutos	90 minutos	120 minutos
Grupo de control	20	2	5	7	8
Grupo de ensayo	20	6	11	16	17

Ejemplo 4

Se llevó a cabo el experimento de actividad espontánea de los ratones. Los ratones se dividieron arbitrariamente en un grupo de administración y un grupo modelo. Se introdujo en el estómago de los ratones 800 mg/kg de la composición y 9,0 g/L de fluido de inyección de cloruro de sodio, respectivamente. Después de quince minutos, a todos los ratones se les introdujo en el estómago 18 mL/kg de licores (*spirits*) destilados chinos al 56 por ciento y se colocaron en instrumentos para medir la actividad espontánea después de 20 minutos, 90 minutos y 120 minutos disponiendo un ratón en cada instrumento, y después de una adaptación de un minuto, se registraron los tiempos de actividad en cinco minutos como índice de actividad espontánea.

Conclusiones: los dos grupos presentaron marcadas diferencias y la actividad espontánea de los ratones a los que se les administró la composición en el grupo de administración era sorprendentemente más alta que la del grupo modelo.

Tabla 4

Grupo	Número de animales	Tiempos de actividad espontánea/5 minutos		
		20 minutos	90 minutos	120 minutos
Grupo modelo	10	31,15±3,435	21,23±2,412	40,11±5,142

Grupo	Número de animales	Tiempos de actividad espontánea/5 minutos		
		20 minutos	90 minutos	120 minutos
Grupo de administración	10	47,30±5,115	23,40±1,985	45,60±4,099

Ejemplo 5

Se llevó a cabo un experimento de tratamiento de intoxicación y anti-intoxicación de ratones. Experimento anti-intoxicación: veinte ratones (mitad machos y mitad hembras) se alimentaron durante tres días y se dividieron en un grupo de administración y un grupo modelo, con diez ratones en cada grupo. A los ratones de cada grupo se les impidió comer y beber durante seis horas; al grupo de administración se administraron al estómago 800 mg/kg de la composición, mientras al grupo modelo se les administraron por vía oral 9,0 g/L de fluido de inyección de cloruro de sodio con idéntica cantidad. Después de 15 minutos, a todos los ratones de los dos grupos se les administraron al estómago 18 mL/kg de licores (spirits) destilados chinos al 56 por ciento y se registró el tiempo requerido desde la pérdida del reflejo de enderezamiento hasta la recuperación del reflejo de enderezamiento de los ratones.

Experimento de tratamiento de intoxicación: el número de los ratones, la división en grupos y el método experimental son idénticos a los del experimento anterior, sin embargo, el tiempo de introducción de la medicina y el tiempo de introducción del licor se intercambiaron, y se registró el tiempo requerido desde la pérdida del reflejo de enderezamiento hasta la recuperación del reflejo de enderezamiento de los ratones.

Conclusiones: los dos grupos presentaron marcadas diferencias y sorprendentemente el grupo de administración es mejor que el grupo modelo.

Tabla 5

Grupo	Número de animales	Tiempo requerido desde la pérdida del reflejo de enderezamiento hasta la recuperación del reflejo de enderezamiento (minutos)	
		Experimento de tratamiento de intoxicación	Experimento anti-intoxicación
Grupo modelo	10	260,74±28,18	256,72±36,34
Grupo de administración	10	157,99±29,45	127,17±39,33

Ejemplo 6

Se determinó la concentración total de etanol en sangre de los ratones. Se dividieron veinte ratones en un grupo modelo y un grupo de administración, con diez ratones en cada grupo. En primer lugar se realizó la introducción en el estómago a los ratones del grupo modelo de 9,0 g/L de fluido de inyección de cloruro de sodio con el volumen idéntico al del grupo de tratamiento; y a los ratones del grupo de administración se les introdujeron 1200 mg/kg de la composición. Después de 60 minutos, a todos los ratones de los dos grupos se les había introducido 16 mL/kg de licores (spirits) destilados chinos al 56 por ciento. A cada vial con espacio de cabeza de 5 mL se añadió 0,1 mL de heparina sódica; después de 120 minutos de la introducción del licor, se sacrificaron los ratones de los dos grupos para la extracción de sangre, extrayéndose exactamente 0,6 mL de sangre que se transfirió a cada vial con espacio de cabeza mediante una pistola de transferencia de líquidos, se añadieron 5 µL de alcohol butílico normal como patrón interno, se selló rápidamente cada vial con un dispositivo de cierre, se agitó uniformemente y se gasificó en un baño de agua con la temperatura constante de 80 grados durante 20 minutos, se extrajo el aire de la capa superior del vial con espacio de cabeza con una jeringa de vidrio de 1 mL y se cargó en un cromatógrafo de gases para determinar el contenido de etanol.

Condiciones del cromatógrafo de gases: columna cromatográfica RTX-5, espesor de película 0,25 µm, longitud de la columna 30 m, diámetro interno 0,25 mm, temperatura de la columna 40°C, temperatura de inyección de la muestra 140°C, temperatura del detector 200°C, gas portador N₂, caudal de la columna 2 mL/min, relación de división 1: 9,0, presión de H₂ 50 kPa y presión de aire 50 kPa.

Conclusiones: los dos grupos presentaron marcadas diferencias y el contenido medio de etanol en sangre completa en el grupo de administración es sorprendentemente menor que el del grupo modelo.

Tabla 6

Grupo	Número de animales	Contenido medio de etanol en sangre completa (g/L)
Grupo modelo	10	0,543±0,088
Grupo de administración	10	0,133±0,024

5 Ejemplo 7

Determinación de ADH (alcohol deshidrogenasa) en hígado y estómago.

Se dividieron veinte ratones en un grupo de tratamiento y un grupo modelo, con diez ratones en cada grupo. A los ratones de cada grupo se les impidió comer y beber durante 16 horas. A los ratones del grupo de tratamiento se les introdujeron en el estómago 800 mg/kg de la composición y a los ratones del grupo de control se les introdujeron en el estómago 9,0 g/L de fluido de inyección de cloruro de sodio con idéntica cantidad. Después de 15 minutos, a los estómagos de los ratones de los dos grupos se les introdujeron 16 mL/kg de licores (spirits) destilados chinos al 56 por ciento. Después de 120 minutos, se extrajeron los hígados y los estómagos de los ratones, se preparó el reactivo relacionado de acuerdo con los manuales de instrucción del kit de ADH y del kit de *Coomassie Brilliant Blue Protein*, se pesaron con exactitud la masa del hígado y del estómago de los ratones en una balanza con una precisión de milésimas, se añadieron 9,0 g/L de fluido de inyección de cloruro de sodio de acuerdo con el volumen específico de masa de 1:10 y se transformó en el homogeneizado de tejido de 100 g/L por medio de un homogeneizador de vidrio, y se centrifugó a una velocidad de 2500 rpm durante 10 minutos, y el fluido sobrenadante se aspiró por un inyector de muestras de microadición. El fluido sobrenadante se dividió en dos partes, una parte se diluyó en el homogeneizado de tejido por 9,0 g/L de fluido de inyección de cloruro de sodio de acuerdo con la proporción de 1:9, se determinó la actividad de ADH (número de unidades de la proteína del homogeneizado por mg (unidad)) en el fluido sobrenadante con un espectrofotómetro ultravioleta de tipo 7520; y la otra parte se utilizó para determinar el contenido de proteínas en el hígado y estómago.

Conclusiones: los dos grupos presentaron marcadas diferencias y sorprendentemente la actividad de ADH en el grupo de administración era menor que la del grupo modelo.

25

Tabla 7

Grupo	Número de animales	Actividad de ADH (U)	
		Hígado	Estómago
Grupo modelo	10	22,778±4,521	29,642±8,131
Grupo de administración	10	34,232±9,471	54,235±14,857

Ejemplo 8

Ensayo de concentración de alcohol en el cuerpo humano - Método de soplado de aire.

Se incluyeron diez hombres en el grupo de hombres con edades entre 20 y 29 años y diez mujeres en el grupo de mujeres con edades entre 20 y 29 años; se realizaron análisis de la concentración de alcohol tres veces, una vez sin tomar la composición, otra vez tomando la composición 15 minutos antes de ingerir la bebida alcohólica y por último tomando la composición inmediatamente después de ingerir la bebida alcohólica, siendo la dosificación de la composición 1200 mg por persona cada vez. Cada persona ingirió 50 mL de licores (spirits) destilados chinos al 56 por ciento cada vez y se determinó en el aire espirado de cada persona, por el instrumento de análisis, la concentración de alcohol 15 minutos, 30 minutos, 45 minutos, 60 minutos, 90 minutos y 120 minutos después de la ingesta de la bebida alcohólica.

Conclusiones: sorprendentemente la concentración de alcohol de cada persona después haber tomado la composición era menor que la de la persona que no tomó la composición, no siendo grande la diferencia entre el grupo de hombres y el grupo de mujeres y siendo mejor el efecto de la administración antes de la ingesta de la bebida alcohólica que el de la administración después de dicha ingesta.

40

Tabla 8: Grupo de hombres

Tiempo de análisis	Valores medios de la concentración de alcohol (método de soplado de aire)		
	Modos		
	Sin toma	Toma antes de la ingesta	Toma inmediatamente después de la ingesta
15(minutos)	0,52	0,30	0,43
30(minutos)	0,48	0,15	0,25
45(minutos)	0,36	0,10	0,18
60(minutos)	0,32	0,08	0,12
90(minutos)	0,27	0,05	0,08
120(minutos)	0,17	0,02	0,05

Tabla 9: Grupo de mujeres

Tiempo de análisis	Valores medios de la concentración de alcohol (método de soplado de aire)		
	Modos		
	Sin toma	Toma antes de la ingesta	Toma inmediatamente después de la ingesta
15(minutos)	0,48	0,32	0,42
30(minutos)	0,45	0,20	0,33
45(minutos)	0,41	0,15	0,19
60(minutos)	0,31	0,11	0,15
90(minutos)	0,24	0,05	0,09
120(minutos)	0,17	0,01	0,02

5 **Ejemplo 9**

Experimento del aumento por la composición de la invención de la función de tolerancia a la hipoxia con presión normal en animales.

10 Animal experimental: se seleccionaron ciento cuarenta y cuatro ratones hembra sanos de segundo grado de la especie ICR y se dividieron arbitrariamente en cuatro grupos de 12 ratones para cada grupo de acuerdo con su peso corporal.

15 Diseño de dosificación: se diseñaron tres grupos de dosificación con las dosificaciones de 400 mg/kg/d (equivalente a diez veces la cantidad de ingesta recomendada para un adulto por kilogramo de peso corporal por día), 800 mg/kg/d y 1200 mg/kg/d y simultáneamente se dispuso un grupo de control normal. Se preparó la muestra de ensayo en agua doblemente destilada y se introdujeron 20 mL/kg de peso corporal de dosificación en los estómagos de los ratones en cada grupo por día durante 30 días continuos. En el grupo de control normal se introdujo en los estómagos de los ratones el agua doblemente destilada en cantidad idéntica.

20 Método experimental: los ratones se introdujeron respectivamente en botellas con tapón de vidrio esmerilado de 250 mL (error de volumen ± 1 mL), cargadas con 5 g de cal sodada, una hora después de la última introducción en el estómago, se sellaron las bocas de las botellas aplicando manteca mineral e inmediatamente se puso en marcha el cronómetro, tomando el cese de la respiración como índice, se observó y se registró la tolerancia a la hipoxia y el tiempo de supervivencia bajo presión normal de los ratones; se llevó a cabo la homogeneidad de la varianza de los datos iniciales por medio del programa estadístico SPSS, cuando la varianza es homogénea, y se realizó la estadística comparativa por pares tomando el número medio entre muchos grupos experimentales y un grupo de

control.

Resultado experimental: el peso corporal y el tiempo de supervivencia del animal en cada grupo antes y después del experimento se muestran en la Tabla 10.

5 Se puede observar que no existe diferencia (P mayor que 0,05) en el peso corporal del animal antes y después del experimento. En comparación con el grupo de control, el tiempo de supervivencia con tolerancia a la hipoxia del animal en el grupo de elevada dosificación es mayor que el del grupo de control, teniendo de ese modo marcadas diferencias (P menor que 0,01).

Tabla 10: Influencia de la composición sobre el tiempo de supervivencia con tolerancia a la hipoxia a presión normal de los ratones (X±S n=12)

10

Grupo	Dosificación de la ingesta (mg/kg de peso corporal/día)	Peso corporal (g)		Tiempo de supervivencia (segundos)	P
		Día 0	Día 30		
Control	0	20,86±1,00	29,92±1,83	1403±241	---
Dosificación baja	400	20,89±0,91	28,92±1,24	1316±149	0,376
Dosificación media	800	20,92±1,03	28,58±1,38	1457±207	0,576
Dosificación alta	1200	20,65±1,17	28,75±2,30	1691±319	0,005

Ejemplo 10

Experimento del aumento por la composición de la ingesta de la supervivencia en la intoxicación por nitrito de sodio en animales.

15 Diseño de dosificación: se diseñaron tres grupos de dosificación con las dosificaciones de 400 mg/kg/d (equivalente a diez veces la cantidad de ingesta recomendada para un adulto por kilogramo de peso corporal por día), 800 mg/kg/d y 1200 mg/kg/d, y simultáneamente se dispuso un grupo de control normal. Se preparó la muestra de ensayo con agua doblemente destilada, se introdujeron en los estómagos de los ratones 20 mL/kg de peso corporal de dosificación en cada grupo por día durante 30 días continuos. En el grupo de control normal se introdujo en los
20 estómagos de los ratones el agua doblemente destilada en cantidad idéntica.

Método experimental: después de la última introducción en los estómagos durante una hora, se inyectó respectivamente nitrito de sodio (capacidad de inyección de 0,1 mL/10 g (peso corporal)) en las cavidades abdominales de los ratones en cada grupo de acuerdo con la dosificación de 220 mg/kg de peso corporal, inmediatamente se puso en marcha el cronómetro y, tomando el cese de la respiración como índice, se registró el
25 tiempo de supervivencia de los ratones.

Resultado experimental: el peso corporal y el tiempo de supervivencia del animal en cada grupo antes y después del experimento se muestran en la Tabla 11. No hay diferencia (P>0,05) en el peso corporal del animal en los dos grupos antes y después del experimento, en comparación con el grupo de control, se prolongó el tiempo de supervivencia de los ratones en cada grupo de dosificación, pero no hubo diferencia significativa (P>0,05).

30 Tabla 11: Influencia de la composición de la ingesta sobre el tiempo de supervivencia por intoxicación con nitrito de sodio en ratones (X±S n=12)

Grupo	Dosificación de la ingesta (mg/kg de peso corporal/día)	Peso corporal (g)		Tiempo de supervivencia (segundos)	P
		Día 0	Día 30		
Control	0	20,73±1,42	29,75±1,81	1429±212	---
Dosificación baja	400	20,17±1,32	29,92±1,97	1532±185	0,386
Dosificación media	800	20,69±1,15	28,92±2,02	1623±395	0,105
Dosificación alta	1200	20,79±0,99	28,75±1,86	1507±308	0,510

Ejemplo 11

Experimento de prolongación por la composición de la invención del tiempo de supervivencia a la hipoxia por isquemia cerebral aguda en animales

- 5 Diseño de dosificación: se diseñaron tres grupos de dosificación con las dosificaciones de 400 mg/kg/d (equivalente a diez veces la cantidad de ingesta recomendada para un adulto por kilogramo de peso corporal por día), 800 mg/kg/d y 1200 mg/kg/d, y simultáneamente se dispuso un grupo de control normal. Se preparó la muestra de ensayo con agua doblemente destilada, se introdujeron en los estómagos de los ratones 20 mL/kg de peso corporal de dosificación en cada grupo por día durante 30 días continuos. En el grupo de control normal se introdujo en los
- 10 estómagos de los ratones el agua doblemente destilada en cantidad idéntica.

Método experimental: los ratones de cada grupo se sacrificaron respectivamente una hora después de la última introducción en el estómago y se registró con un contador de segundos el tiempo desde el sacrificio de los ratones hasta que dejaron de jadear por la boca.

- 15 El peso corporal del animal antes y después del experimento y el tiempo desde el sacrificio de los ratones hasta el momento en que dejaron de jadear por la boca se muestran en la Tabla 12. No hay diferencia (P mayor que 0,05) entre el peso corporal de los animales en los dos grupos antes y después del experimento. En comparación con todos los otros grupos de dosificación, aumentó el tiempo desde el sacrificio del animal hasta el momento en que dejaron de jadear por la boca del grupo de control y el tiempo de cese del jadeo de los animales entre el grupo de dosificación media y el grupo de dosificación alta presentó una diferencia extremadamente sorprendente (P menor que 0,01).
- 20

Tabla 12: Influencia de la composición sobre el tiempo de supervivencia a la hipoxia por isquemia cerebral aguda de ratones pequeños (X±S n=12)

Grupo	Dosificación de la ingesta (mg/kg de peso corporal/día)	Peso corporal (g)		Tiempo de supervivencia (segundos)	P
		Día 0	Día 30		
Control	0	20,50±1,04	29,53±2,27	13,91±1,37	---
Dosificación baja	400	20,77±1,06	29,75±2,22	15,18±1,07	0,062
Dosificación media	800	20,99±1,14	29,50±1,09	17,40±2,30	0,000
Dosificación alta	1200	20,89±1,19	28,00±1,35	16,40±1,48	0,001

Ejemplo 12

Experimento de la función de protección auxiliar por la composición de la invención de lesión hepática por alcohol

La cantidad de ingesta de la composición para el cuerpo humano es 2400 mg por persona al día.

5 Animales experimentales: se seleccionaron cincuenta ratones hembra sanos de segundo grado de la especie ICR con un peso corporal entre 18 y 22 g y se dividieron arbitrariamente en cinco grupos con 10 ratones en cada grupo de acuerdo con el peso corporal.

10 Diseño de la dosificación: se diseñaron tres grupos de dosificación de muestra con la dosificación de 200 mg/kg/d, 400 mg/kg/d (equivalente a diez veces la cantidad de ingesta recomendada para un adulto por kilogramo de peso corporal por día) y 1200 mg/kg/d, un grupo de control en blanco y un grupo de control modelo. Los objetos de ensayo en los grupos de dosificación de muestra se prepararon con agua doblemente destilada, los objetos de ensayo en el grupo de control en blanco y el grupo de control modelo se administraron con agua doblemente destilada, se introdujeron respectivamente 20 mL/kg de peso corporal de dosificación en los estómagos de los ratones de cada grupo por día durante 30 días continuos. Se introdujeron respectivamente 10 mL/kg de peso corporal de etanol al 65 por ciento en los estómagos de los ratones del grupo de control modelo y en los grupos de dosificación de muestra después de dos horas de la administración del objeto de ensayo por última vez, se administró agua doblemente destilada a los ratones del grupo de control en blanco, se sacrificaron los animales después de mantenerlos en ayunas durante seis horas para la determinación de diversos índices bioquímicos y examen histopatológico del hígado.

Método experimental

20 Determinación de los índices bioquímicos: se tomaron 0,2 g de tejido hepático y se transformaron en homogeneizado de hígado. El homogeneizado de hígado se centrifugó a una velocidad de 3000 r.p.m. durante diez minutos y después se retiró el líquido sobrenadante. Se determinó con un instrumento de análisis bioquímico el contenido de TG en el líquido sobrenadante del homogeneizado y se determinaron manualmente el nivel de MDA, GSH y proteína en el líquido sobrenadante del homogeneizado de acuerdo con el método proporcionado en el kit de reactivos.

Examen histopatológico del hígado: se tomó el lóbulo izquierdo del hígado, se fijó con formaldehído al 4 por ciento y el hígado se cortó en trozos a través de parafina y hielo, se tiñó con HE y sudán III, se examinó con un microscopio y se clasificó.

30 Tratamiento de los datos: el peso corporal de los ratones, TG, MDA, GSH y otros datos son todos datos de medición; se llevó a cabo el ensayo de normalidad y el ensayo de homogeneidad para la varianza de los datos iniciales por medio del programa estadístico SPSS, transformándose logarítmicamente los datos de MDA y TG para garantizar que dichos datos cumplieran el requisito de homogeneidad de la varianza; después, se llevó a cabo el análisis del disolvente por el método de análisis de varianza de factor uno (ANOVA), se llevó a cabo el tratamiento estadístico de los datos (P es mayor que 0,05) por estadística comparativa por pares tomando el número medio entre muchos grupos experimentales y un grupo de control. El resultado de la inspección histopatológica se trató estadísticamente por un ensayo de suma de rangos.

40 Resultado experimental: la influencia de la composición sobre el peso corporal de los animales se muestra en la Tabla 14.1. No hay diferencia real (P mayor que 0,05) en el peso corporal de los ratones en todos los grupos antes y después del experimento. Esto muestra que la composición no tiene influencia particular sobre los aumentos de peso corporal de los ratones.

45 La Tabla 14.2 muestra la influencia de la composición sobre el contenido de malondialdehído (MDA) en el homogeneizado de hígado de los ratones. Según lo mostrado en esta Tabla, aumentó el contenido de MDA en el homogeneizado de hígado de los ratones en el grupo de control modelo y había una diferencia significativa (P menor que 0,01) en comparación con el grupo de control en blanco, y esto demuestra que el modelo es satisfactorio. En la composición, en comparación con el grupo de control modelo, disminuyó el MDA en el homogeneizado de hígado de los ratones en el grupo de dosificación alta y había una importante diferencia (P menor que 0,05), y esto muestra que puede reducirse el contenido de MDA en el homogeneizado de hígado de los ratones con lesión hepática por alcohol en el grupo de dosificación alta utilizando la composición de la invención.

50 La Tabla 14.3 muestra la influencia de la composición de acuerdo con la invención sobre el contenido reducido de glutatión (GSH) en el homogeneizado de hígado de los ratones. En efecto, se redujo el contenido de GSH en el homogeneizado de hígado de los ratones en el grupo de control modelo y había una diferencia significativa (P menor que 0,01) en comparación con el grupo de control en blanco, y esto muestra que el modelo es satisfactorio. En comparación con el grupo de control modelo, aumentó el contenido de GSH en el homogeneizado de hígado de los ratones en todos los grupos de dosificación utilizando la composición de la invención, y las diferencias son respectivamente significativas (P menor que 0,05, P menor que 0,01). Esto muestra que la composición de la invención puede aumentar el contenido de GSH en el tejido hepático de los ratones con una lesión hepática por alcohol.

La Tabla 14.4 muestra la influencia de la composición de acuerdo con la invención sobre el contenido de trilaurato de glicerina (YG) en el homogeneizado de hígado de los ratones.

Como se muestra en la Tabla 14.4, aumentó el contenido de TG en el homogeneizado de hígado de los ratones en el grupo de control modelo y había una diferencia significativa (P menor que 0,01) en comparación con el grupo de control en blanco, y esto muestra que el modelo es satisfactorio. En comparación con el grupo de control modelo, se redujo el contenido de TG en el homogeneizado de hígado de los ratones en el grupo de dosificación alta utilizando la composición de la invención y había una diferencia significativa (P menor que 0,01), y esto muestra que la composición puede reducir el contenido de TG en el homogeneizado de hígado de los ratones con lesión hepática por alcohol en el grupo de dosificación alta.

La Tabla 14.5 muestra la influencia de la composición de acuerdo con la invención sobre el cambio patológico del tejido hepático de los ratones. En el grupo de control modelo se produjo la degeneración grasa de las células hepáticas de los ratones con diferentes grados y había una diferencia significativa (P menor que 0,01) en comparación con el grupo de control en blanco, y esto muestra que el modelo es satisfactorio. En comparación con el grupo de control modelo, se redujo el grado de degeneración grasa de células hepáticas de los ratones en todos los grupos de dosificación utilizando la composición de la invención y había una diferencia significativa (P menor que 0,01). Esto muestra que la composición puede reducir el grado de degeneración grasa de las células hepáticas de los ratones con lesión hepática por alcohol en todos los grupos de dosificación.

Tabla 14.1: Peso corporal inicial y peso corporal final de cada ratón ($\bar{X} \pm s$)

Grupo	Dosificación (mg/peso en kg por día)	Número de animales	Peso corporal inicial (g)	Peso corporal final (g)	P
Grupo de control	0	10	21,2±1,2	27,6±1,9	0,911
Grupo modelo	0		20,9±1,4	27,9±1,9	0,911
Dosificación alta	1200	10	20,9±1,3	28,2±2,2	0,911
Dosificación media	400	10	20,8±1,4	27,8±1,8	0,911
Dosificación baja	200	10	21,0±1,3	27,8±1,8	0,911

Notas: el peso corporal inicial p de los ratones en cada grupo es igual a 0,996 por ANOVA; y el peso corporal final p de los ratones es igual a 0,911 por ANOVA.

Tabla 14.2: Influencia de la composición de la invención sobre el contenido de malondialdehído (MDA) en homogeneizado de hígado de ratones ($\bar{X} \pm s$)

Grupo	Dosificación (mg/peso en kg por día)	Número de animales	MDA (nmol/mg prot)	Valor P
Grupo de control en blanco	0	10	3,8±0,9	0,000
Grupo de control modelo	0	10	9,5±1,4	----
Grupo de dosificación alta	1200	10	6,5±3,0	0,035

Grupo	Dosificación (mg/peso en kg por día)	Número de animales	MDA (nmol/mg prot)	Valor P
Grupo de dosificación media	400	10	6,0±1,6	0,020
Grupo de dosificación baja	200	10	8,6±2,8	0,782

Notas: los datos en cada grupo están transformados logarítmicamente para obtener el resultado de P mayor que 0,001 por ANOVA.

Tabla 14.3: Influencia de la composición de la invención sobre el contenido de glutatión (GSH) en el homogeneizado de hígado de los ratones ($\bar{X} \pm s$)

Grupo	Dosificación (mg/peso en kg por día)	Número de animales	GSH (mg/g prot)	Valor P
Grupo de control en blanco	0	10	104,458±9,33	0,000
Grupo de control en blanco	0	10	104,458±9,33	0,000
Grupo de control modelo	0	10	81,30±10,02	----
Grupo de dosificación alta	1200	10	99,55±10,85	0,000
Grupo de dosificación media	400	10	89,71±8,47	0,045
Grupo de dosificación baja	200	10	93,22±6,16	0,005

5 Tabla 14.4: Influencia de la composición de la invención sobre el contenido de trilaurato de glicerina (YG) en homogeneizado de hígado de ratones pequeños ($\bar{X} \pm s$)

Grupo	Dosificación (mg/peso en kg por día)	Número de animales	TG (μ mol/g de hígado)	Valor P
Grupo de control en blanco	0	10	16,78±1,22	0,000
Grupo de control modelo	0	10	16,40±7,85	----
Grupo de dosificación alta	1200	10	9,98±2,62	0,006

Grupo	Dosificación (mg/peso en kg por día)	Número de animales	TG (µmol/g de hígado)	Valor P
Grupo de dosificación media	400	10	12,76±3,90	0,173
Grupo de dosificación baja	200	10	15,36±5,02	0,890

Notas: los datos de P en cada grupo son iguales a 0,000 por ANOVA.

Tabla 14.5: Influencia de la composición de la invención sobre el cambio patológico de tejido hepático de ratones pequeños

Grupo	Dosificación (mg/peso en kg por día)	Número de animales	Grado de contenido de citolipina en hígado				Valor P (Ensayo de Mann-Whitney)
			0	1	2	3	
Grupo de control en blanco	0	10	10	0	0	0	<0,001
Grupo de control modelo	0	10	0	2	7	1	----
Grupo de dosificación alta	1200	10	2	7	1	0	<0,001
Grupo de dosificación media	400	10	2	6	2	0	<0,001
Grupo de dosificación baja	200	10	0	6	3	1	0,001

Notas: los datos de P en cada grupo son menores que 0,001 por el ensayo de suma de rangos de Kruskal-Wallis y el examen.

5

Resumiendo los resultados experimentales, cuatro índices de los contenidos de MDA, GSH y TG en hígado y el examen de histología patológica son positivos utilizando la composición de la invención. Esto confirma que la composición de la invención presenta una función de protección auxiliar para la lesión hepática por alcohol.

Ejemplo 13

10 La composición de acuerdo con la presente invención también se probó en ocho voluntarios que sufrían migrañas recurrentes y se demostró que disminuyeron la frecuencia, la intensidad y la duración de los episodios de migraña según lo informado por los sujetos después de la ingesta diaria de la composición durante 3 meses

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una preparación que comprende la combinación de una composición (a) que contiene aminoácidos que consisten en citrulina e hidrocloreuro de ornitina y/o sus sales farmacéuticamente aceptables y una composición (b) que contiene una mezcla de ginseng o extracto de ginseng, extracto de hoja de ginkgo biloba y extracto de silibinina, opcionalmente con un excipiente apropiado.
2. La preparación de la reivindicación 1, caracterizada por que la composición (a) que contiene aminoácidos tiene una proporción en peso de citrulina e hidrocloreuro de ornitina y/o sus sales farmacéuticamente aceptables, que es de 0,1 por ciento a 99 por ciento: 99 por ciento a 0,1 por ciento, respectivamente.
- 10 3. La preparación de la reivindicación 1, caracterizada por que la composición (b) tiene una proporción en peso de ginseng o extracto de ginseng, extracto de hoja de ginkgo biloba y extracto de silibinina que es de 0,01 por ciento a 99 por ciento, de 0,01 por ciento a 99 por ciento y de 0,01 por ciento a 99 por ciento, respectivamente.
- 15 4. La preparación de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, caracterizada por que la composición (a) que contiene aminoácidos comprende además aminoácidos adicionales seleccionados entre arginina, ornitina, treonina, triptófano o 5-hidroxitriptófano.
- 20 5. La preparación de la reivindicación 4, caracterizada por que la relación en peso entre dichos aminoácidos añadidos y la composición (a) que contiene aminoácidos que consisten en citrulina e hidrocloreuro de ornitina y/o sus sales farmacéuticamente aceptables es 0,0001 por ciento a 50 por ciento: 99,9999 por ciento a 50 por ciento, respectivamente.
6. La preparación de cualquiera de las reivindicaciones 1-5, caracterizada por que la composición (b) comprende además extractos de plantas adicionales seleccionados entre extracto de fruta de *barbury wolfberry* y polifenoles de té.
7. La preparación de la reivindicación 6, caracterizada por que la relación en peso de:
la mezcla de ginseng o extracto de ginseng comprende entre 0,001 por ciento y 99 por ciento,
el extracto de hoja de ginkgo biloba comprende entre 0,001 por ciento y 99 por ciento,
25 el extracto de silibinina comprende entre 0,001 por ciento y 99 por ciento,
el extracto de fruta de *barbury wolfberry* comprende entre 0,0001 por ciento y 70 por ciento
y los polifenoles de té comprenden respectivamente entre 0,0001 por ciento y 60 por ciento.
8. La preparación de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde el excipiente apropiado es un excipiente farmacéuticamente aceptable.
- 30 9. La preparación de la reivindicación 8, caracterizada por que dicho excipiente farmacéuticamente aceptable se selecciona entre:
Hidroxipropil-celulosa, metilcelulosa, croscarmelosa sódica, diversos derivados de almidón, dióxido de silicio, estearato de magnesio, blanco francés, behenato de glicerilo y agente anti-enrojecimiento.
- 35 10. Una preparación alimenticia que comprende la preparación de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7.
11. Un complemento dietético que comprende la preparación de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7.
12. Un producto nutracéutico que comprende la preparación de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7.
- 40 13. Una bebida que comprende la preparación de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7.
14. Un medicamento que comprende la preparación de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9.
15. El medicamento de la reivindicación 14 o el complemento dietético de la reivindicación 11, caracterizado por que dicho medicamento o complemento dietético se ha de administrar en una dosificación entre 0,1 mg/kg al día a 1g/kg al día.
- 45 16. La preparación de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, para uso en un método para:
- la protección de lesiones hepáticas por productos químicos,

- el aumento de tolerancia a la hipoxia,
 - la eliminación acelerada del contenido de etanol *in vivo* y
 - el aumento de la viabilidad y reducción en el medio anóxico.
- 5 17. La preparación de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-9, para uso en un método para tratar o prevenir la intoxicación por alcohol.
18. La preparación de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 o el medicamento de acuerdo con la reivindicación 14, para uso en un método para tratar o prevenir la intoxicación por alcohol, lesiones hepáticas por productos químicos, tolerancia a la hipoxia, contenido de etanol *in vivo*, aumento de la viabilidad y reducción en el medio anóxico, en un sujeto que lo necesite.
- 10 19. La preparación o el método para uso de acuerdo con la reivindicación 18, en donde la preparación o el medicamento se administra por vía oral, parenteral o tópica.
20. La preparación o el medicamento para uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 18 a 19, en donde la preparación de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 o el medicamento de acuerdo con la reivindicación 14 se administra en una dosificación de 0,1 mg/kg al día a 1 g/kg al día.
- 15 21. La preparación o el medicamento para uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 18 a 20, en donde el sujeto que lo necesita es un mamífero, preferiblemente un ser humano.
22. La preparación de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en forma de una formulación sólida, tal como cápsulas o comprimidos o en forma de un líquido o solución oleosa.
- 20 23. La preparación de acuerdo con la reivindicación 22, en donde dicha cápsula o comprimido fabricado comprende por unidad de dosificación:
- 80 mg a 816 mg de citrulina o idéntica cantidad de una de sus sales,
 - 50 mg a 512 mg de ornitina o idéntica cantidad de una de sus sales,
 - 0,0001 mg a 430 mg de arginina,
 - 0,0001 mg a 310 mg de triptófano,
- 25 - 0,0001 mg a 450 mg de 5-hidroxitriptófano,
- 0001 mg a 500 mg de treonina,
 - 1 mg a 500 mg de extracto de ginseng, extracto de hoja de ginkgo biloba, extracto de silibinina o extracto de fruta de *barbury wolfberry* y,
 - 0,0001 mg a 250 mg de polifenoles de té.
- 30 24. La preparación de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-9, para uso en un método para tratar o prevenir el dolor de cabeza o la migraña.