

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 767 148**

51 Int. Cl.:

A61K 31/198 (2006.01)

A61K 31/4415 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **23.08.2012 PCT/CN2012/080517**

87 Fecha y número de publicación internacional: **06.02.2014 WO14019268**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.08.2012 E 12882373 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.11.2019 EP 2881112**

54 Título: **Composición farmacéutica para promover la restauración de lesiones nerviosas y su aplicación**

30 Prioridad:

01.08.2012 CN 201210272724

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

16.06.2020

73 Titular/es:

**HUANG, TONGGE (100.0%)
Room 104, Block 36 Yulan Shanzhuang,
Yuhuatai, Nanjing
Jiangsu 210000 , CN**

72 Inventor/es:

**YUE, MAOXING;
WAN, HONGGUI y
HUANG, TONGGE**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 767 148 T3

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

DESCRIPCIÓN

Composición farmacéutica para promover la restauración de lesiones nerviosas y su aplicación

Antecedentes**Campo técnico**

- 5 La presente invención se refiere al campo de los medicamentos y productos para el cuidado de la salud, y particularmente a una composición farmacéutica para promover la restauración de lesiones nerviosas y su uso.

Técnica relacionada

10 En la década de 1960, los científicos confirmaron por primera vez que el sistema nervioso central de los mamíferos tiene una propiedad de restauración endógena, los axones neuronales y las ramas principales del cerebro adulto y la médula espinal que están sujetos a algún grado de lesión pueden restaurarse, y el nacimiento de nuevas neuronas en los cerebros de aves adultas, primates no humanos y humanos se llama restauración nerviosa. Los fármacos de restauración nerviosa se refieren a aquellos fármacos que promueven la restauración neuronal al actuar directamente sobre las células madre neurales en cerebros humanos o animales y tienen el efecto de aumentar las neuronas cerebrales. Dichos fármacos de restauración nerviosa pueden usarse para el tratamiento de enfermedades 15 neurológicas causadas por lesión o degeneración neural.

Hasta la fecha, hay muchos fármacos para tratar la lesión de la médula espinal, pero solo se usa ampliamente la metilprednisolona, ya que su efecto en el tratamiento de la lesión de la médula espinal se ha confirmado. Muchas otros fármacos aún están en la etapa experimental, y con el desarrollo de investigaciones esenciales sobre el mecanismo de la lesión de la médula espinal, algunos fármacos nuevos o fármacos existentes han mostrado ser efectivos 20 continuamente en el tratamiento de la lesión de la médula espinal experimental. Sin embargo, debido a varias razones, estos fármacos no pueden entrar en la etapa de ensayo clínico. Como resultado, aunque hay muchos fármacos nuevos, dichos fármacos no pueden ser ampliamente usados clínicamente. Además, la mayoría de los fármacos simplemente actúan sobre un cierto aspecto de la lesión de la médula espinal, mientras que la lesión de la médula espinal involucra muchos aspectos y mecanismos de lesión, por lo que los efectos de estos nuevos fármacos son limitados. Además, las características únicas de la ventana terapéutica después de la lesión de la médula espinal también afectan el desarrollo de fármacos. Actualmente, para tratar la lesión de la médula espinal, a menudo se usan 25 diferentes fármacos en combinación, lo que proporciona mejor efecto terapéutico que el de un fármaco único. En investigaciones de factores que promueven la restauración nerviosa, el primer factor regulador de las células nerviosas reportado, cuya estructura molecular se ha explicado claramente, es el factor de crecimiento nervioso (NGF). Además, las investigaciones también se centran en los gangliósidos y el factor básico de crecimiento de fibroblastos (bFGF), que se ha demostrado por separado que tienen efectos promotores del crecimiento nervioso de diferentes niveles. Las investigaciones y aplicaciones actuales se centran principalmente en factores únicos, pero los factores descritos tienen efectos muy limitados sobre la restauración nerviosa, el efecto terapéutico es indeterminado y el coste es alto, por lo que los factores no pueden ser ampliamente usados clínicamente. Actualmente, las investigaciones clínicas y las 30 aplicaciones de sustitutos e inductores de factores de crecimiento nervioso y factores neurotróficos avanzan lentamente en el extranjero, y hasta el momento no existe un fármaco confiable para promover la restauración de lesiones nerviosas. Por lo tanto, cómo promover la restauración nerviosa después de una lesión para restaurar las funciones se ha convertido en el centro de la investigación.

La mielitis aguda se refiere a un tipo de lesiones inflamatorias inespecíficas en la médula espinal, que siempre ocurre 40 después de la infección, donde la inflamación a menudo involucra materia gris y blanca de varios segmentos espinales y meninges circundantes, y la médula espinal torácica es la más susceptible a experimentar síntomas de lesión medular transversa. La manifestación clínica se caracteriza por parálisis de las extremidades por debajo del nivel de la lesión, disfunción del tracto sensorial y dificultades para orinar y defecar. El tratamiento temprano, los cuidados intensivos y el entrenamiento de rehabilitación temprana son muy importantes para el pronóstico de la mielitis aguda. 45 La posición de los segmentos involucrados de la médula espinal es uno de los principales factores que influyen en el efecto terapéutico. Cuanto más altos son los segmentos de la médula espinal, más pobre es el efecto terapéutico. Actualmente, los procedimientos de tratamiento incluyen principalmente: terapia inmunosupresora, que incluye principalmente corticosteroides, inmunoglobulina, etc.; y tratamiento sintomático, que incluye principalmente la nutrición de los nervios, antiinfección y terapia de apoyo. Sin embargo, la aplicación de los procedimientos de 50 tratamiento existentes es limitada debido a los grandes efectos secundarios y a efectos terapéuticos no significativos.

Los aminoácidos son las sustancias más básicas que constituyen las proteínas de los organismos que participan en actividades vitales, son las unidades básicas que constituyen las moléculas de proteínas en los organismos y están estrechamente asociadas con las actividades vitales de los organismos. Los aminoácidos tienen funciones fisiológicas especiales en los anticuerpos y son uno de los nutrientes indispensables en los organismos. Los aminoácidos tienen 55 las siguientes funciones en el cuerpo humano a través del metabolismo: (1) síntesis de proteínas tisulares; (2) ser transformados en sustancias que contienen amoníaco, tales como ácidos, hormonas, anticuerpos y creatina; (3) convertirse en carbohidratos y grasas; (4) ser oxidados en dióxido de carbono, agua y urea, con energía generada. La L-ornitina es un aminoácido no proteico, participa principalmente en el ciclo de la urea en los organismos, desempeña

un papel importante en la descarga del nitrógeno amoniacal del cuerpo y, junto con el ácido aspártico, puede mejorar la función de desintoxicación del hígado, disminuir rápidamente el amoníaco en la sangre, y promover la restauración y regeneración de las células hepáticas. Por lo tanto, los aminoácidos existentes en el cuerpo humano no solo proporcionan importantes materias primas para la síntesis de proteínas, sino que también proporcionan una base material para promover el crecimiento, llevar a cabo el metabolismo normal y mantener la vida. La falta o el agotamiento de uno de los aminoácidos en el cuerpo humano puede impedir el metabolismo normal del cuerpo humano, o incluso conducir a diversas enfermedades o el fin de las actividades vitales. Por lo tanto, los aminoácidos tienen las funciones de nutrir los nervios y promover el metabolismo enzimático, la producción de neurotransmisores y la restauración de la función celular.

Las vitaminas B son vitaminas solubles en agua, incluyen vitamina B₁, vitamina B₂, vitamina B₆, vitamina B₁₂, ácido nicotínico, ácido pantoténico, ácido fólico, etc., y son sustancias indispensables para promover el metabolismo in vivo y convertir los carbohidratos, grasas y proteínas en calor. Las vitaminas B tienen efectos sinérgicos y pueden regular el metabolismo, mantener la salud de la piel y los músculos, mejorar las funciones del sistema inmune y el sistema nervioso, promover el crecimiento y la división celular y facilitar la recuperación de la función nerviosa. La vitamina B₁ tiene un buen efecto sobre el tejido nervioso y el estado mental, y puede ayudar a mantener el estado de alerta mental y la estabilidad emocional, promover la circulación sanguínea, ayudar en la producción de ácido clorhídrico, la formación de sangre y el metabolismo de los carbohidratos, contribuir a la percepción humana y ayudar al cerebro a funcionar en su estado óptimo; y también juega un papel positivo en el metabolismo energético, crecimiento, apetito y capacidad de aprendizaje. La vitamina B₁₂ se almacena en el hígado, pero se excreta fácilmente a través de la orina; mantiene el crecimiento normal del cuerpo y el crecimiento de glóbulos rojos, y ayuda a mantener la salud del sistema nervioso.

La B₆ puede ser la más importante entre todas las vitaminas del grupo B. B₆ en los músculos del cuerpo humano representa del 70 % al 80 % de esta en todo el cuerpo. B₆ desempeña un papel clave en el metabolismo de proteínas, lípidos y carbohidratos. Por lo tanto, una persona que perdió una gran cantidad de B₆ tendrá trastornos del metabolismo de los aminoácidos. La vitamina B₆ es una coenzima para muchos sistemas enzimáticos importantes en el cuerpo, participa en procesos fisiológicos tal como la descarboxilación de aminoácidos, la síntesis de triptófano, el metabolismo de aminoácidos que contienen azufre y el metabolismo de ácidos grasos insaturados, y es un nutriente necesario para el desarrollo normal de animales y reproducción de bacterias y levaduras. Además, la vitamina B₆ también es un diurético natural y, por lo tanto, puede usarse para la desintoxicación. Mediante infusión intravenosa de 5 g de vitamina B₆, se pueden inducir alrededor de 380 ml de orina. La vitamina B₆ es una coenzima para el metabolismo de aminoácidos en el cuerpo humano, los neurotransmisores ácido γ -aminobutírico (GABA) y ácido glutámico (Glu). Se sabe que más de 60 enzimas en el hígado requieren la participación de la vitamina B₆, por lo tanto, la vitamina B₆ desempeña un papel muy importante en la promoción del metabolismo enzimático normal en el cuerpo. La vitamina B₆ puede mantener el nivel de los neurotransmisores ácido γ -aminobutírico (GABA) y ácido glutámico (Glu). Además, la vitamina B₆ tiene una vida media corta en el cuerpo y se excreta rápidamente.

Después de la lesión de la médula espinal, los antioxidantes endógenos tales como las vitaminas C y E se reducen o agotan significativamente. La vitamina C tiene efectos antiinflamatorios y antioxidantes, y debido a su pequeño peso molecular relativo, puede ingresar directamente en las células para eliminar directa o indirectamente los radicales libres de oxígeno y bloquear la peroxidación lipídica. La vitamina C también puede tener un efecto antioxidante al recuperar la actividad de la vitamina E. La vitamina C puede promover la biosíntesis del colágeno para acelerar la curación de las lesiones de los tejidos; promover el metabolismo de los aminoácidos tirosina y triptófano para prolongar la vida del cuerpo; mejorar la resistencia al estrés y la inmunidad del cuerpo contra el ambiente externo; mejorar la utilización del hierro, calcio y ácido fólico; y mejorar el metabolismo de las grasas y los lípidos, especialmente el colesterol, para prevenir las enfermedades cardiovasculares. EPC-K1 es un derivado recientemente sintetizado de la vitamina C y vitamina E, y puede eliminar independientemente los radicales libres solubles en agua y en lípidos. Katoh y otros, descubrieron que el uso de EPC-K1 en un modelo de lesión de la médula espinal de rata puede bloquear significativamente la peroxidación lipídica y eliminar los radicales libres (solubles en agua + solubles en lípidos) después de la lesión de la médula espinal, logrando así el efecto de proteger la médula espinal lesionada.

El documento WO2012/016408 y la solicitud europea EP2601951 correspondiente divulgan una composición que comprende L-ornitina, ácido aspártico, arginina y vitamina B6 y su uso en medicina. Dicha composición puede comprender además otros aminoácidos y vitaminas.

Sumario

El objetivo de la presente invención es proporcionar una composición farmacéutica para su uso en la promoción de la restauración de lesiones nerviosas, que es una composición de vitaminas y aminoácidos complejos diseñada para pacientes con enfermedades de la médula espinal, y puede promover la restauración nerviosa para restaurar la mayoría o la totalidad de las funciones de los nervios y músculos debajo del segmento de la lesión, para que los pacientes puedan vivir básicamente de forma independiente.

Otro objetivo de la presente invención es proporcionar un uso de la composición farmacéutica.

Los objetivos de la presente invención se logran mediante las siguientes soluciones técnicas:

Se proporciona una composición farmacéutica para su uso en promover la restauración de lesiones nerviosas, donde cada unidad de la composición farmacéutica contiene: 0,5 a 8 g de L-ornitina, 1 a 5 g de ácido aspártico, 3 a 10 g de arginina, 3 a 10 g de vitamina B₆, siendo el resto un excipiente y/u otros ingredientes.

5 De acuerdo con la composición farmacéutica, cada unidad de la composición farmacéutica contiene además una o más de las siguientes sustancias: isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano, valina, histidina, glicina, alanina, prolina, asparagina, cisteína, ácido glutámico, serina, tirosina, vitamina B₁, Vitamina B₂, ácido pantoténico, biotina, ácido fólico, vitamina B₁₂ y vitamina C.

10 De acuerdo con la composición farmacéutica, en cada unidad de la composición farmacéutica, los contenidos de los aminoácidos son: 3 a 10 g de isoleucina, 5 a 15 g de leucina, 3 a 10 g de lisina, 0,5 a 3 g de metionina, 0,5 a 3 g de fenilalanina, 3 a 10 g de treonina, 0,5 a 3 g de triptófano, 5 a 15 g de valina, 3 a 8 g de histidina, 3 a 8 g de glicina, 3 a 10 g de alanina, 3 a 8 g de prolina, 0,1 a 3 g de asparagina, 0,1 a 3 g de cisteína, 3 a 10 g de ácido glutámico, 0,5 a 5 g de serina y 0,1 a 3 g de tirosina; y los contenidos de las vitaminas B son: 1 a 2 mg de vitamina B₁, 1 a 2 mg de vitamina B₂, 3 a 5 mg de ácido pantoténico, 0,1 a 0,2 mg de biotina, 0,1 a 0,4 mg de ácido fólico, 2 a 6 µg de vitamina B₁₂, y 1 a 3 g de vitamina C.

15 De acuerdo con la composición farmacéutica, la composición farmacéutica contiene una combinación de una o más de las vitaminas B y vitamina C, y preferiblemente, una combinación de vitamina C y vitamina B₆.

De acuerdo con la composición farmacéutica, la composición farmacéutica contiene además una cantidad adecuada de inyección de glucosa y cloruro de sodio al 5 % o inyección de cloruro de sodio al 0,9 %.

20 De acuerdo con la composición farmacéutica, la composición farmacéutica puede estar en cualquier forma de dosificación farmacéutica, y preferiblemente está en forma de gránulos, pastillas, cápsulas o inyecciones.

Se proporciona un uso de la composición farmacéutica en la preparación de un fármaco y/o producto para el cuidado de la salud para promover la restauración de lesiones nerviosas.

De acuerdo con el uso, el fármaco para promover la restauración de la lesión nerviosa es un fármaco para tratar la lesión de la médula espinal.

25 De acuerdo con el uso, la enfermedad de lesión de la médula espinal es mielitis aguda.

La presente invención tiene los siguientes efectos beneficiosos:

30 En la composición farmacéutica de la presente invención, los aminoácidos y las vitaminas se usan como materia prima que, después de combinarse científicamente, no solo pueden proporcionar apoyo nutricional a los pacientes y mejorar la inmunidad del cuerpo, sino que también pueden nutrir los nervios y promover el metabolismo enzimático, la producción de neurotransmisores y la restauración de la función celular. En comparación con los fármacos existentes para tratar las enfermedades de lesión de la médula espinal, la composición farmacéutica de la presente invención tiene las ventajas de un efecto terapéutico confirmado, menos efectos secundarios y similares. En cuanto a los pacientes clínicos con mielitis secundaria, sobre la base de un tratamiento integral, una nueva terapia que usa una combinación de aminoácidos complejos y grandes dosis de B₆ seguramente tiene la eficacia de la diuresis, la desintoxicación, la antioxidación, la reducción del exudado, la promoción del metabolismo de las enzimas y la protección de las funciones del cerebro y el sistema nervioso. Como coenzimas para la síntesis de varios neurotransmisores, las vitaminas B₁ y B₆ tienen funciones especiales de regulación nerviosa, son fáciles de absorber por vía oral y tienen muy pocos efectos tóxicos y secundarios. En vista de las características anteriores, las vitaminas B₁ y B₆ tienen una amplia posibilidad de aplicación en el desarrollo de un nuevo fármaco neurotrófico y neuroprotector para enfermedades neurológicas.

35 Los experimentos farmacológicos de la composición de la presente invención y las observaciones clínicas son las siguientes:

Experimento I: Influencia de la composición farmacéutica en la restauración nerviosa y la función motora después de la lesión de la médula espinal en ratas

45 1. Materiales y procedimientos experimentales

50 1) Procedimientos de modelado y administración: Se seleccionan 60 ratas Wistar sanas, machos o hembras adultas, limpias y estándar, con un peso de 250 a 300 g, se inyectan con pentobarbital sódico al 1 % (50 mg/kg) por vía intraperitoneal para anestesia y se fijan en una posición prona. En condiciones estériles, se exponen las apófisis espinosas T9 y T10, se cortan las placas vertebrales para exponer la duramadre y se establecen modelos de lesión de la médula espinal usando el procedimiento de caída de peso (10 g * 4 cm). Los criterios para establecer con éxito los modelos de lesión de la médula espinal son que: se observa edema del tejido de la médula espinal e hiperemia subdural y hemorragia después del golpe, y para la prueba de comportamiento a las 24 h después de la cirugía, el puntaje BBB (Basso-Beattie-Bresnahan) es menor o igual a 1. La hemostasia y la sutura se realizan a tiempo después de la cirugía, se mejora el calentamiento y el tratamiento antiinfeccioso, el

masaje de la vejiga se realiza dos veces al día y la desinfección con povidona yodada en el perineo hasta la recuperación de la función de la vejiga. Después del modelado exitoso, 60 ratas se dividen aleatoriamente en dos grupos: un grupo de tratamiento con solución salina y uno con la composición farmacéutica. Después de la cirugía, el grupo de tratamiento se administra por vía intraperitoneal con una inyección de la composición farmacéutica a 2 ml/kg una vez al día durante 4 semanas. El grupo de solución salina se inyecta con solución salina del mismo volumen por vía intraperitoneal. La composición de la presente invención usada en este experimento se prepara de acuerdo con la Realización 3.

2) Prueba de la placa inclinada: La rata se coloca horizontalmente en placa inclinada Rivlin mejorada con la cabeza hacia la izquierda, el ángulo se incrementa gradualmente desde la posición horizontal, el ángulo máximo en el que el animal puede permanecer en la placa durante 5 segundos sin caerse se toma como estándar para la evaluación, la prueba se repite tres veces y el valor promedio se toma como resultado final. Los dos grupos de ratas se someten respectivamente a la prueba a 1 d, 2 d, 3 d, 1 s, 2 s, 3 s y 4 s después de la cirugía.

3) Calificación motora BBB: La función motora de los dos grupos de ratas se califica usando el procedimiento de doble ciego, el animal se coloca en un escritorio plano, pero no liso a la luz, se observan las actividades de cada articulación de las patas traseras y se califica la función motora. La rata se califica antes de la lesión, y está respectivamente a 1 d, 2 d, 3 d, 1 s, 2 s, 3 s y 4 s después del modelado, y la detección se realiza tres veces, y se promedian los resultados. La calificación refleja principalmente la recuperación de la función motora, la rata normal puede obtener la calificación más alta (21), la rata con la lesión más grave es 0.

4) Selección de tejido y preparación de secciones: Los dos grupos de ratas se anestesian respectivamente en tres puntos temporales (1 h, 48 h y 72 h) después de la cirugía, se infunden aproximadamente 200 ml de solución salina de heparina a través del ventrículo izquierdo hasta que sale un sobrenadante líquido, y luego se infunden aproximadamente 200 ml de paraformaldehído al 4 % para su fijación. El tejido de la médula espinal que tiene una longitud de aproximadamente 8 mm con la lesión como el centro, se toma y se fija con paraformaldehído al 4% durante 24 h. Después de la inclusión de parafina de rutina, las secciones en serie se cortan con un grosor de 5 μm y se tiñen con tinción de hematoxilina-eosina de rutina, cada muestra se corta en 25 secciones.

5) Tinción inmunohistoquímica: La expresión de NF se detecta mediante el uso de tinción inmunohistoquímica SuperPicture. La concentración de trabajo del anticuerpo primario anti-NF es 1:400, y se usa un kit SuperPicture de amplio espectro de inmunohistoquímica de 2^{da} generación (Mouse/Rabbit KIT, de Zymed reempaquetado). Se usa un kit de color DAB (DAB-0031). Los resultados de la tinción se observan bajo un microscopio óptico, y las células inmunes positivas se tiñen de amarillo pardo u oscuro. Para cada sección, se seleccionan 10 campos visuales diferentes bajo el microscopio óptico con un aumento de 400 veces, y se usa un analizador de imágenes patológicas y el software de análisis de imágenes Leica QWin. En cuanto a las secciones teñidas en el mismo lote, primero, se establece el mismo estándar de acuerdo con el valor gris de tinción, y luego se calcula el valor gris promedio del neurofilamento (NF) de acuerdo con el color de fondo de la tinción. El valor gris puede reflejar indirectamente la actividad de expresión de las proteínas celulares, cuanto mayor es el valor gris, menor es la actividad de expresión; cuanto menor es el valor gris, mayor es la actividad de expresión.

2. Principales medidas de resultado: función motora de la rata, observación histopatológica de la médula espinal, determinación del valor gris de las células positivas por tinción del NF.

3. Resultados experimentales

1) Observación histopatológica de la médula espinal de ratas de cada grupo.

Los resultados del examen patológico a las 72 h después del modelado muestran que la estructura del tejido de la médula espinal de las ratas en el grupo de control está desordenada, se produce hemorragia en astillas en muchos sitios y se forman quistes después de la necrosis por hemorragia, la inflamación de las células nerviosas es obvia, una gran cantidad de células inflamatorias se agregan, algunas células nerviosas no pueden reconocerse, el límite de la materia gris y blanca no está claro, el canal central desaparece parcialmente o se compensa, y el borde de la médula espinal está adherido; la estructura del tejido de la médula espinal de las ratas en el grupo de fármacos es generalmente clara, la hemorragia y la necrosis están en un nivel bajo, se forman menos quistes, la inflamación de las células nerviosas no es obvia, el número de células inflamatorias infiltradas es pequeño, las células nerviosas son abundantes, se produce edema de la sustancia blanca y el borde del área cortical de la médula espinal no está claro.

2) Expresión de NF

Después de la lesión de la médula espinal, la expresión de NF en las células nerviosas del tejido de la médula espinal aumenta gradualmente con el tiempo, y aparece primero en las neuronas motoras del asta anterior, pero luego aparece en las neuronas del asta dorsal espinal. En el aspecto de la morfología, el cuerpo celular y el núcleo de las neuronas están aumentados. En cuanto al grupo de tratamiento con la composición farmacéutica, se observa un aumento en la expresión de NF 1 h después de la lesión, todavía se puede observar una alta expresión de NF a las 72 h después de la lesión, y en todos los puntos de tiempo, el nivel de expresión de NF del grupo de tratamiento con la composición farmacéutica es más alto que el del grupo de solución salina, y hay una diferencia significativa en el valor gris de NF entre el grupo de tratamiento con la composición farmacéutica y el grupo de solución salina ($P < 0,05$). Ver la tabla 1.

Tabla 1 Valores grises ($x \pm s$) de células de la médula espinal positivas para la tinción de NF alrededor de la región de la lesión en diferentes momentos de los dos grupos

Grupo	1 h	48 h	72 h
Grupo de solución salina	231,42±6,04	193,37±4,20	189,41±4,86
Grupo de tratamiento con el fármaco	190,32±4,28*	185,34±5,71*	175,80±6,65*

* En comparación con el grupo de solución salina, $P < 0,05$

3) Cambios de comportamiento de las ratas en cada grupo.

- 5 La calificación BBB de los dos grupos de ratas antes del modelado son ambas 21, la parálisis de ambas extremidades inferiores ocurre después del modelado y todas las ratas tienen retención urinaria. En cuanto al shock espinal, la calificación en los primeros 3 días es baja, y a medida que pasa el tiempo, las funciones de la médula espinal de las ratas se recuperan gradualmente, y la fuerza de los músculos de las extremidades posteriores aumenta gradualmente, la calificación a los 7 días después de la lesión aumenta para ambos grupos de ratas, y existe una diferencia significativa entre el grupo de tratamiento y el grupo de solución salina ($P < 0,05$). Los resultados de la prueba de la placa inclinada después de la cirugía muestran que a partir de 3 días después de la lesión, el ángulo máximo de la placa inclinada se incrementa para ambos grupos, pero no hay diferencias significativas entre los dos grupos, mientras que después de 7 días, hay una diferencia significativa entre el grupo del fármaco y el grupo de control, $P < 0,05$ (ver Tabla 2 y Tabla 3), lo que indica que la inyección de la composición farmacéutica puede promover significativamente la recuperación de la función del nervio espinal después de la lesión.

Tabla 2 Resultados de la prueba de placa inclinada de cada grupo de ratas en diferentes períodos de tiempo después de la lesión ($x \pm s$)

Tiempo después de la lesión	Grupo de control	Grupo de tratamiento
1 d	26,48±2,96	30,82±2,32
2 d	28,42±1,98	32,68±3,23
3 d	30,28±2,43	36,53±2,35
1 s	33,74±2,82	41,81±4,32*
2 s	35,50±5,36	45,94±4,76*
3 s	42,67±5,24	53,65±5,26*
4 s	45,31±5,12	56,79±6,25*

Nota: * Comparación con el grupo de control $p < 0,05$

Tabla 3 Resultados de la calificación BBB de cada grupo de ratas después de la lesión

Tiempo después de la lesión	Grupo de control	Grupo de fármaco
1 d	0	0
2 d	1,24±0,82	1,42±0,57
3 d	3,03±0,81	4,07±1,42
1 s	5,29±1,68	8,38±1,33*
2 s	8,24±1,58	11,34±1,65*
3 s	10,59±1,86	15,81±2,63*
4 s	12,68±1,69	18,23±2,85*

Nota: * Comparación con el grupo de control, $P < 0,05$

20

Experimento II: Experimentos de observación clínica

1. Criterios de selección de casos

De acuerdo con los criterios de diagnóstico de mielitis aguda establecidos por el Grupo de Trabajo del Consorcio de Mielitis Transversa (grupo de trabajo transv, TMCWG) en 2002:

- (1) disfunciones progresivas sensoriales, motoras, de micción y defecación causadas por una lesión de la médula espinal;
- 5 (2) síntomas o signos de afectación bilateral (no necesariamente simétrica bilateralmente);
- (3) tener un nivel sensorial exacto;
- (4) excluir la compresión de la médula espinal a través del examen de imágenes;
- 10 (5) inflamación indicada por el aumento de células en el líquido cefalorraquídeo; o si no hay inflamación, las manifestaciones por resonancia magnética y un recuento celular de $(2-7) \cdot 10^6/L$ también confirman el diagnóstico de mielitis aguda;
- (6) la enfermedad alcanza el pico a las 4 h a 21 d; y
- 15 (7) excluir lo siguiente: enfermedades vasculares espinales, enfermedades del tejido conectivo determinadas por pruebas serológicas o confirmación clínica, sífilis, HIV, linfoma, HTLV21, anomalías de la cabeza de la resonancia magnética sugestivas de mielitis causada por infección por micoplasma o virus especial (como HSV y VZV), diagnóstico de esclerosis múltiple, diagnóstico previo de neuritis óptica.

Fases de la mielitis aguda:

Con referencia a los criterios establecidos por el TMCWG: dividido en fase aguda y fase de recuperación de acuerdo con la progresión de la enfermedad:

- fase aguda: dentro de las 3 semanas desde la patogénesis;
- 20 fase de recuperación: después de 3 semanas desde la patogénesis.

2. Procedimiento de investigación:

Se confirman 30 pacientes con mielitis aguda en este grupo según la manifestación clínica, el líquido cefalorraquídeo y el examen de MR. Para 18 casos, la lesión está en los segmentos torácicos; para 6 casos, la lesión está en los segmentos lumbares; para 5 casos, la lesión está en los segmentos cervicales; para 1 caso, la lesión está en los segmentos sacros

15 pacientes en el grupo de tratamiento incluyen 9 casos de hombres y 6 casos de mujeres de 16 a 68 años, son tratados con cantidades convencionales de corticosteroides, y al mismo tiempo son administrados con la composición farmacéutica de la presente invención (preparada de acuerdo con Realización 5).

15 pacientes en el grupo de control incluyen 8 casos de hombres y 7 casos de mujeres de 19 a 72 años, y son tratados con cantidades convencionales de corticosteroides.

Además del tratamiento farmacológico, se brindan tratamientos como nutrición de los nervios y apoyo sintomático, así como cuidados intensivos para los pacientes de los dos grupos al mismo tiempo, a fin de prevenir y tratar las complicaciones.

3. Índices del efecto terapéutico:

- 35 Tiempo para mejorar la fuerza muscular de la extremidad paralizada al nivel II;
- Tiempo para la recuperación de las funciones del esfínter;
- Tiempo para caminar de forma independiente

4. Determinación del efecto terapéutico:

- Cura: recuperado de la parálisis a caminar de forma independiente y buena función intestinal y vesical;
- 40 Efecto notable: recuperado de la parálisis a la deambulación con un bastón;
- Mejorado: mejora de la función muscular y de la vejiga después del tratamiento, pero no puede caminar ni orinar de forma independiente;
- Ineficaz o empeorado: sin mejoría o empeoramiento de los síntomas y signos, muerte.

5. Resultados:

Los números de cura, efecto notable, mejorado, ineficaz y muerte en el grupo de tratamiento son 5, 6, 3, 1 y 0 respectivamente, y los números de cura, efecto notable, mejorado, ineficaz y muerte en el grupo de control son 2, 4, 6, 2 y 1. De acuerdo con la presente invención, el tiempo de recuperación de la función nerviosa del grupo de tratamiento es significativamente menor que el del grupo de control, la tasa de curación y la tasa de efecto notable son significativamente más altas que las del grupo de control, y existen diferencias significativas (ver Tabla 1 y Tabla 2). Los pacientes en los dos grupos no tienen complicaciones ni molestias durante el tratamiento, y no se producen anomalías en los signos vitales, las funciones hepáticas y renales y otros marcadores bioquímicos y ECG.

Tabla 1 Relación entre el efecto terapéutico y el procedimiento de tratamiento.

Grupo	Cura	Efecto notable	Mejorado	Ineficaz	Muerte	Tasa de cura y de efecto notable
Grupo de tratamiento	5	6	3	1	0	11 (73,3 %).
Grupo de control	2	4	6	2	1	6 (40,0 %).

Tabla 2 Comparación de la recuperación de la función nerviosa de los dos grupos (x±sd)

Grupo	Números de casos	Tiempo para mejorar la fuerza muscular de 2 niveles.	Tiempo de restauración de la micción	Tiempo para caminar de forma independiente
Grupo de tratamiento	15	14,82±7,43	10,98±4,05	22,34±8,97
Grupo de control	15	24,29±8,41	19,63±6,27	30,13±4,32

Breve descripción de los dibujos

No hay dibujos.

Descripción detallada

La presente invención se describe adicionalmente a continuación a través de realizaciones, pero la presente invención no se limita a las siguientes realizaciones.

Realización 1: Preparación de la composición farmacéutica

Una composición farmacéutica contenía los siguientes componentes: 500 ml de una inyección de aminoácidos complejos que contiene 5 aminoácidos (1,5 g de L-ornitina, 2,5 g de ácido L-aspartico, 8,5 g de L-arginina, 3,8 g de L-glicina, 4,6 g de L-treonina); y 8 g de vitamina B₆ se añadieron a 250 ml de una inyección de cloruro de sodio al 0,9 %.

Realización 2: Preparación de la composición farmacéutica

Una composición farmacéutica contenía los siguientes componentes: 500 ml de una inyección de aminoácidos complejos que contiene 3,5 g de L-ornitina, 2,50 g de ácido aspártico, 8,80 g de arginina, 8,80 g de isoleucina, 13,60 g de leucina, 7,51 g de lisina, 1,20 g de metionina, 1,60 g de fenilalanina, 4,60 g de treonina, 1,50 g de triptófano, 10,60 g de valina, 4,70 g de histidina, 6,30 g de glicina, 8,30 g de alanina, 7,10 g de prolina, 0,48 g de asparagina, 0,59 g de cisteína, 5,70 g de ácido glutámico, 3,70 g de serina y 0,67 g de tirosina; y 5 g de vitamina B₆ y 3 g de vitamina C, donde las vitaminas se agregaron a 250 ml de una inyección de cloruro de sodio al 0,9 %.

Realización 3: Preparación de la composición farmacéutica

Una composición farmacéutica contenía los siguientes componentes: 500 ml de una inyección de aminoácidos complejos que contiene 4,5 g de L-ornitina, 2,80 g de ácido aspártico, 8,30 g de arginina, 6,50 g de isoleucina, 12,00 g de leucina, 7,50 g de lisina, 1,60 g de metionina, 1,40 g de fenilalanina, 1,80 g de triptófano, 10,60 g de valina, 4,80 g de histidina, 6,20 g de glicina, 8,50 g de alanina, 7,10 g de prolina, 0,48 g de asparagina, 5,70 g de ácido glutámico, 3,70 g de serina y 0,67 g de tirosina; y 8 g de vitamina B₆, 2 mg de vitamina B₁, 1 mg de vitamina B₂, 4 mg de ácido pantoténico, 0,2 mg de biotina, 0,3 mg de ácido fólico, 6 µg de vitamina B₁₂ y 2 g de vitamina C, donde las vitaminas se agregaron a 250 ml de una inyección de glucosa y cloruro de sodio al 5%.

Realización 4: Preparación de la composición farmacéutica

Una composición farmacéutica contenía los siguientes componentes: 500 ml de una inyección de aminoácidos complejos que contiene 2,5 g de L-ornitina, 2,50 g de ácido aspártico, 8,80 g de arginina, 6,80 g de isoleucina, 11,50 g de leucina, 7,50 g de lisina, 1,60 g de metionina, 1,30 g de fenilalanina, 4,40 g de treonina, 1,70 g de triptófano, 4,60

g de histidina, 6,30 g de glicina, 8,30 g de alanina, 6,20 g de prolina, 0,60 g de asparagina, 0,80 g de cisteína, 5,70 g de ácido glutámico, 3,70 g de serina y 1,10 g de tirosina; y 1 mg de vitamina B₁, 10 g de vitamina B₆ y 3 g de vitamina C, donde las vitaminas se agregaron a 250 ml de una inyección de glucosa y cloruro de sodio al 5 %.

Realización 5: Preparación de la composición farmacéutica

- 5 Una composición farmacéutica contenía los siguientes componentes: 500 ml de una inyección compleja de aminoácidos que contiene 2,50 g de L-ornitina, 2,50 g de ácido aspártico, 8,80 g de arginina, 6,80 g de isoleucina, 11,50 g de leucina, 7,50 g de lisina, 1,60 g de metionina, 1,30 g de fenilalanina, 4,40 g de treonina, 1,70 g de triptófano, 10 g de valina, 4,60 g de histidina, 6,30 g de glicina, 8,30 g de alanina, 6,20 g de prolina, 0,60 g de asparagina, 0,80 g de cisteína, 5,70 g de ácido glutámico, 3,70 g de serina y 1,10 g de tirosina; y 1 mg de vitamina B₁, 1 mg de vitamina B₂, 10 g de vitamina B₆, 3 mg de ácido pantoténico, 0,1 mg de biotina, 0,2 mg de ácido fólico, 5 µg de vitamina B₁₂ y 3 g de vitamina C, donde las vitaminas se agregaron a 250 ml de una inyección de glucosa y cloruro de sodio al 5 %.

Realización 6: Descripción de casos específicos

- 15 Caso 1: paciente masculino, 23 años, número de admisión: 201038515. El paciente ingresó en el hospital como paciente con apendicitis aguda de emergencia debido a más de diez horas de dolor abdominal el 22 de diciembre de 2010, y recibió apendicectomía. En la noche postoperatoria, el paciente tuvo entumecimiento en ambas extremidades inferiores con el lado derecho más grave. El tono muscular de ambas extremidades inferiores fue bajo, la fuerza muscular de la extremidad inferior derecha fue de nivel 0, la fuerza muscular de la extremidad inferior izquierda fue de nivel III, el reflejo tendinoso en ambos lados fue (+), y no había señal de Babinski a ambos lados. El examen de tomografía computarizada lumbar (532325) se realizó de inmediato y mostró neumatosis en el canal espinal correspondiente a T12-L4 y neumatosis en tejido blando paraespinal. El examen completo de resonancia magnética de la médula espinal (56442) indica inflamación de la médula espinal torácica de 3 a 9, la señal fue heterogénea, no se observó una mejora significativa y no se observó ninguna anomalía en la tomografía computarizada simple de la columna lumbar. El paciente no pudo orinar de forma independiente al día siguiente y se mantuvo el cateterismo uretral. El paciente tuvo dificultad con la defecación. La fuerza muscular de ambas extremidades inferiores fue de nivel 0, el tono muscular se redujo, no hubo signos patológicos en ninguno de los lados, se vio afectada la sensibilidad superficial del tórax derecho 6 a 8 y lumbar 2 y por debajo, y la sensibilidad profunda del lumbar 2 y por debajo fue anormal. La sensibilidad superficial del tórax izquierdo 6 a 8 y lumbar 4 y por debajo se vio afectada, y la sensibilidad profunda del lumbar izquierdo 4 y por debajo se vio afectada. El reflejo abdominal fue negativo, el reflejo rotuliano fue sospechosamente positivo y el reflejo aquileo fue negativo. Se realizó una punción lumbar para examinar el líquido cefalorraquídeo, y el informe mostró: el líquido cefalorraquídeo era incoloro y transparente, la prueba de Pandy fue negativa, el recuento de glóbulos rojos fue de $300 \times 10^6/L$, y el recuento de glóbulos blancos fue de $1 \times 10^6/L$. Informe patológico postoperatorio: apendicitis aguda simple (número de registro médico 201014312). De acuerdo con la historia del caso, la manifestación clínica, la tomografía computarizada, la resonancia magnética y el examen de punción lumbar, el paciente fue diagnosticado de mielitis aguda complicada por apendicitis y, en la etapa inicial, fue sometido a un tratamiento integral de terapia hormonal, deshidratación, nutrición de los nervios y anticuerpos de bloqueo de inmunoglobulina intravenosa y ejercicios de rehabilitación en etapa temprana. Al mismo tiempo, 500 ml de una inyección de aminoácidos complejos ivgtt qd (que contiene: 4,50 g de L-ornitina, 2,80 g de ácido aspártico, 8,50 g de arginina, 7,50 g de isoleucina, 10,80 g de leucina, 8,50 g de lisina, 1,60 g de metionina, 2,00 g de fenilalanina, 4,60 g de treonina, 1,50 g de triptófano, 10,50 g de valina, 4,70 g de histidina, 6,30 g de glicina, 8,00 g de alanina, 6,50 g de prolina, 0,60 g de asparagina, 0,80 g de cisteína, 5,00 g de ácido glutámico, 3,50 g de serina y 1,60 g de tirosina) + 10 g de vitamina B₆ + 1,5 mg de vitamina B₁ + 1,5 mg de vitamina B₂ + 2 g de vitamina C (las vitaminas se añadieron a 250 ml de una inyección de cloruro de sodio al 0,9%) se infundieron lentamente por vía intravenosa a una velocidad de 30 a 60 gotas por minuto; y la terapia hormonal se detuvo después de 6 semanas. Se usaron grandes dosis de vitamina B₆ continuamente y se realizaron ejercicios de rehabilitación funcional. 2 meses después, la cantidad de vitamina B₆ se cambió a 3 g qd y la vitamina B₆ se usó de manera intermitente durante un curso de cinco días. El paciente podía levantar la extremidad inferior izquierda de la cama después de 2 meses, podía orinar de forma independiente después de 4 meses, podía levantar la extremidad inferior derecha de la cama después de 6 meses, podía caminar con ayuda después de 7 meses y ahora puede orinar y defecar de forma independiente. El paciente se sintió bien y ahora puede caminar de forma independiente. No se observaron efectos tóxicos o secundarios. El paciente ha sido dado de alta del hospital por más de 3 meses, está en buenas condiciones y puede cuidarse solo. Todo el examen de resonancia magnética de la médula espinal después del alta mostró que las cuerdas espinales torácicas 3 a 9 se han recuperado.

- 55 Caso 2: un paciente masculino, 68 años, número de admisión: 201233619. El paciente ingresó en el hospital como paciente con hemangioma vertebral torácico 8 y recibió una cirugía de resección del hemangioma vertebral en un hospital de Shanghai en octubre de 2011. Después de la cirugía se produjo incontinencia urinaria y fecal, el tono muscular de ambas extremidades inferiores fue de 0, el reflejo tendinoso en ambos lados fue (+), y el paciente fue diagnosticado de paraplejía después de la cirugía. El paciente había recibido tratamiento en hospitales de diferentes regiones, pero el efecto terapéutico no fue bueno. La paciente ingresó en el hospital para recibir tratamiento en marzo de 2012. Diagnóstico de ingreso: paraplejía después de la cirugía. 500 ml de una inyección de aminoácidos complejos ivgtt qd (que contiene: 4,50 g de L-ornitina, 2,80 g de ácido aspártico, 8,50 g de arginina, 7,50 g de isoleucina, 10,80 g de leucina, 8,50 g de lisina, 1,60 g de metionina, 2,00 g de fenilalanina, 4,60 g de treonina, 1,50 g de triptófano, 10,50 g de valina, 4,70 g de histidina, 6,30 g de glicina, 8,00 g de alanina, 6,50 g de prolina, 0,60 g de asparagina,

0,80 g de cisteína, 5,00 g de ácido glutámico, 3,50 g de serina y 1,60 g de tirosina) + 3 g de vitamina B₆ + 2 g de vitamina C (las vitaminas se añadieron a 250 ml de una inyección de cloruro de sodio al 0,9 %) se infundieron lentamente por vía intravenosa a una velocidad de 30 a 60 gotas por minuto, y se realizaron ejercicios de rehabilitación funcional. El paciente podía caminar entre 500 y 600 metros agarrando las manijas de una silla de ruedas. No se observaron efectos tóxicos o secundarios. El paciente ha sido dado de alta del hospital por más de 1 mes y está en buenas condiciones.

5
10
15
20

Caso 3: paciente masculino, 38 años, número de admisión: 201267398. El 16 de junio de 2012 se produjo una fractura violenta de las vértebras del cuello debido a una lesión por caída, y se causó una lesión de la médula espinal cervical, que resultó en paraplejía. El paciente recibió una fijación del cuerpo vertebral cervical y una cirugía de descompresión de la médula espinal cervical el 18 de junio de 2012, y todavía estaba en paraplejía después de la cirugía. Se adoptaron varios tratamientos, pero el efecto terapéutico no fue bueno. Después de la consulta, 500 ml de una inyección de aminoácidos complejos ivgtt qd (que contiene: 4,50 g de L-ornitina, 2,80 g de ácido aspártico, 8,50 g de arginina, 7,50 g de isoleucina, 10,80 g de leucina, 8,50 g de lisina, 1,60 g de metionina, 2,00 g de fenilalanina, 4,60 g de treonina, 1,50 g de triptófano, 10,50 g de valina, 4,70 g de histidina, 6,30 g de glicina, 8,00 g de alanina, 6,50 g de prolina, 0,60 g de asparagina, 0,80 g de cisteína, 5,00 g de ácido glutámico, 3,50 g de serina y 1,60 g de tirosina) + 5 g de vitamina B₆ + 2 g de vitamina C (las vitaminas se añadieron a 250 ml de una inyección de cloruro de sodio al 0,9 %) se infundieron lentamente por vía intravenosa a una velocidad de 30 a 60 gotas por minuto, y se realizaron ejercicios de rehabilitación funcional. El paciente tuvo una conciencia clara después de 18 días, el movimiento de ambas extremidades superiores fue bueno, la sensibilidad al tacto mejoró significativamente y el tono muscular de ambas extremidades inferiores mejoró ligeramente.

El paciente ahora está en tratamiento.

REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica para su uso en un procedimiento para promover la restauración de lesiones nerviosas, en el que cada unidad de la composición farmacéutica comprende: 0,5 a 8 g de L-ornitina, 1 a 5 g de ácido aspártico, 3 a 10 g de arginina, 3 a 10 g de vitamina B₆, siendo el resto un excipiente y/u otros ingredientes.
- 5 2. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que cada unidad de la composición farmacéutica comprende además una o más de las siguientes sustancias: isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano, valina, histidina, glicina, alanina, prolina, asparagina, cisteína, ácido glutámico, serina, tirosina, vitamina B₁, vitamina B₂, ácido pantoténico, biotina, ácido fólico, vitamina B₁₂ y vitamina C.
- 10 3. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 2, en la que en cada unidad de la composición farmacéutica, los contenidos de los aminoácidos son: 3 a 10 g de isoleucina, 5 a 15 g de leucina, 3 a 10 g de lisina, 0,5 a 3 g de metionina, 0,5 a 3 g de fenilalanina, 3 a 10 g de treonina, 0,5 a 3 g de triptófano, 5 a 15 g de valina, 3 a 8 g de histidina, 3 a 8 g de glicina, 3 a 10 g de alanina, 3 a 8 g de prolina, 0,1 a 3 g de asparagina, 0,1 a 3 g de cisteína, 3 a 10 g de ácido glutámico, 0,5 a 5 g de serina y 0,1 a 3 g de tirosina; y los contenidos de las vitaminas B son: 1 a 2 mg de vitamina B₁, 1 a 2 mg de vitamina B₂, 3 a 5 mg de ácido pantoténico, 0,1 a 0,2 mg de biotina, 0,1 a 0,4 mg de ácido fólico, 2 a 6 µg de vitamina B₁₂ y 1 a 3 g de vitamina C.
- 15 4. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la composición comprende una combinación de una cualquiera o más de vitaminas B y vitamina C, y preferiblemente, una combinación de vitamina C y vitamina B₆.
- 20 5. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que la composición farmacéutica comprende además una cantidad adecuada de inyección de glucosa y cloruro de sodio al 5 % o inyección de cloruro de sodio al 0,9 %.
6. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que la composición farmacéutica puede estar en cualquier forma de dosificación farmacéutica, y preferiblemente está en forma de gránulos, pastillas, cápsulas o inyecciones.
- 25 7. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en la que la lesión del nervio es una lesión de la médula espinal, preferiblemente la enfermedad de lesión de la médula espinal es mielitis aguda.