

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 977 108**

51 Int. Cl.:

A61K 31/375 (2006.01)

A61K 31/4415 (2006.01)

A61K 31/51 (2006.01)

A61P 25/24 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **10.10.2016** **PCT/RU2016/050049**

87 Fecha y número de publicación internacional: **27.04.2017** **WO17069662**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.10.2016** **E 16857875 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.12.2023** **EP 3366288**

54 Título: **Ascorbato de litio que exhibe actividad antiestrés, ansiolítica y antidepresiva**

30 Prioridad:

23.10.2015 RU 2015145777

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
19.08.2024

73 Titular/es:

NORMOPHARM INC (100.0%)
1000 N. West Street Suite 1200
Wilmington, DE 19801, US

72 Inventor/es:

RASTASHANSKIY, VIACHESLAV VALERIEVICH y
OSTRENKO, KONSTANTIN SERGEEVICH

74 Agente/Representante:

FERNÁNDEZ POU, Felipe

Observaciones:

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

ES 2 977 108 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

Ascorbato de litio que exhibe actividad antiestrés, ansiolítica y antidepresiva

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere al campo de los productos farmacéuticos, específicamente a compuestos químicos a base de sales de litio, específicamente a las sustancias con actividad antiestrés, ansiolítica y antidepresiva, y que pueden usarse en la medicina, la ciencia veterinaria o la industria farmacéutica.

10 Se propone que el agente reivindicado se use para la producción de preparaciones complejas basadas en el mismo, y también como elemento constituyente en diversas formas medicinales y farmacéuticas: bálsamos, soluciones y tabletas.

15 Antecedentes de la invención

Se conoce que el ascorbato de litio se usa como elemento constituyente de una composición que exhibe actividad antioxidante e inmunoestimulante (documento RU núm. 2444358 C1, 10.03.2012), como agente para aumentar la eficiencia de los neutrófilos (documento RU 15 núm. 2226391 C2, 10.01.2004), como agente hematoprotector (documento RU núm. 2351326, 10.04.2009).

20 Todas las referencias mencionadas sobre el ascorbato de litio no describen ni sugieren sus potenciales propiedades antidepresivas, ansiolíticas y antiestrés. El análisis de la técnica anterior disponible mostró que otros no habían publicado previamente datos sobre las actividades antidepresivas, ansiolíticas o antiestrés del ascorbato de litio.

25 Actualmente se usan composiciones a base de sales de litio con actividad nootrópica. Actualmente se usa una sal de litio n-(4-acetoxibenzoil)glicina (documento RU 2505294, 27.01.2014), que se refiere a nuevas sales de litio solubles en agua de un derivado de la glicina (ácido aminoacético) con el ácido 4-hidroxibenzoico.

30 Dicho agente permite obtener un derivado de la glicina soluble en agua muy efectivo y ácido 4-hidroxibenzoico que combina los principales efectos inherentes a los agentes tranquilizantes y nootrópicos.

35 A partir de la fuente de datos (documento RU 2322240 C1, 20.04.2008), se conoce que existe una composición farmacéutica que posee actividad nootrópica y que comprende un principio activo de dimefosfona. El producto farmacéutico en forma de solución acuosa contiene, adicionalmente, ácido cítrico y carbonato de litio con la siguiente relación de los componentes, % en masa: dimefosfona 15,0-30,0; carbonato de litio 0,5-5,0; ácido cítrico 3,0-4,0; agua desionizada - hasta 100.

40 Un inconveniente de dicha composición es su considerable toxicidad debido al uso de la sal de litio (carbonato de litio) que posee una alta toxicidad.

45 También existe una preparación (conocida a partir de la patente RU 2428992 C1, 20.09.2011) para corregir afecciones de estrés en el ganado, que comprende oxibato de litio, selenito de sodio, ácido ascórbico y agua para inyección en la relación de los componentes (en % en masa): oxibato de litio - 4,0-7,0; selenito de sodio - 0,2-0,5; ácido ascórbico - 3,0 - 12,0; agua para inyección - el resto. La preparación posee una marcada actividad nootrópica y acción inmunoestimulante, y es conveniente para su administración.

50 Un inconveniente de dicha composición es el uso de oxibato de litio que tiene una variedad de efectos secundarios tales como malestar general, mareos, somnolencia, debilidad muscular, temblor de las extremidades superiores, taquicardia sinusal, eventos dispépticos, diarrea, temblor, tic, desarrollo de bocio simple, reacciones alérgicas.

A partir de la patente (documento RU 2477722 C1, 20.03.2013) se conoce una sal de litio del ácido coménico y el uso de la misma como agente antioxidante, antiestrés y neuroprotector.

55 A partir de dicha patente (documento RU 2477722 C1, 20.03.2013) se desprende que una sal de litio del ácido coménico se obtiene al mezclar una solución de ácido coménico, calentada a la temperatura de 80 ± 2 °C, con la cantidad estequiométrica de la solución de carbonato o hidróxido de litio y al colorear la solución de amarillo y un valor de pH de la solución de 4,6 o 10,0, respectivamente, y aislar la sal de litio del ácido coménico de la solución mediante destilación del agua al vacío. Una sal de litio del ácido coménico pertenece a los agentes para la prevención y el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas causadas por el daño oxidativo del cerebro. Con este propósito, se propone tomar una sal de litio del ácido coménico de litio en la cantidad de 2 mg por 1 kg de peso corporal una vez al día durante 3 días.

60 Una desventaja de esta invención es que se dirige solo a la prevención y el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas causadas por el daño cerebral oxidativo.

Existe un agente que contiene litio para la prevención y el tratamiento de enfermedades cerebrovasculares (documento RU 2367427 C1, 20.09.2009).

El agente mencionado para el tratamiento y prevención de enfermedades cerebrovasculares contiene una sal de litio en la que el catión litio se une al anión de un ácido orgánico de un grupo de los siguientes: adipato, aspartato, benzoato, gamma linolenoato, glicinato, gluconato, nicotinato, orotato, salicilato, citrato. El agente que contiene litio para la prevención y el tratamiento de enfermedades cerebrovasculares garantiza la eficacia del tratamiento a dosis bajas del agente indicado.

Sin embargo, este agente se dirige solo a la prevención y el tratamiento del ictus.

Lo más cercano a la composición reivindicada es un agente que contiene carbonato de litio usado como medicamento por pacientes en fase maníaca y para la prevención de la exacerbación de trastornos afectivos bipolares, trastornos esquizoafectivos, afecciones maníacas de diversa génesis, trastornos afectivos en el alcoholismo crónico, drogodependencia, anomalías sexuales, síndrome de Meniere, migraña [M.D. Mashkovsky, Lekarstvenniye Sredstva: Posobiye dlya vrachei. - T.1. - Moscú: Novaya Volna. - 2002. - págs. 109-110]. El principal inconveniente de este agente es su baja biodisponibilidad, que da como resultado la necesidad de dosis altas, así como también su alta toxicidad (LD50 = 531 mg/kg), lo que conduce a numerosos efectos secundarios: temblor, somnolencia, adinamia, alteración del ritmo cardíaco, miastenia grave, aumento de la sed, poliuria y disfunción renal. Esto reduce considerablemente el intervalo terapéutico, con un alto riesgo de sobredosis.

Se conoce que el ácido ascórbico se usa para tratar la depresión. Ver: BINFARE R W Y OTROS: "Ascorbic acid administration produces an antidepressant-like effect: Evidence for the involvement of monoaminergic neurotransmission", PROGRESS IN NEURO-PSYCHOPHARMACOLOGY & BIOLOGICAL PSYCHIATRY, ELSEVIER, GB.

El cloruro de litio también se conoce por su efecto ansiolítico. Ver: SMAGIN D A Y OTROS: "Anxiogenic and Anxiolytic Effects of Lithium Chloride under Preventive and Therapeutic Treatments of Male Mice with Repeated Experience of Aggression", ZHURNAL VYSSHEI NERVNOI DEYATEL'NOSTI IMENI I. P. PAVLOVA.

Resumen de la invención

El grupo de invenciones reivindicado se dirige a ampliar el arsenal de candidatos farmacéuticos con acciones antiestrés, ansiolíticas y antidepresivas.

El resultado técnico logrado en la presente invención es el hecho de que los agentes y composiciones reivindicadas poseen propiedades antiestrés, ansiolíticas y antidepresivas.

Además, el agente reivindicado y las composiciones correspondientes basadas en el agente tienen una eficacia aumentada en dosis bajas y una toxicidad baja en comparación con el fármaco conocido.

Para solucionar este problema se propone el ascorbato de litio como agente con efecto antiestrés, ansiolítico y antidepresivo.

Además, el objetivo se logra mediante el uso del ascorbato de litio como sal de litio en la composición indicada con una sal de litio, la composición también contiene, preferentemente, clorhidrato de piridoxina y mononitrato de tiamina.

Se prefiere usar en la composición la siguiente relación de masa (%) de ascorbato de litio, clorhidrato de piridoxina y mononitrato de tiamina.

Ascorbato de litio: 10-90 %;
Clorhidrato de piridoxina: 6-50 %;
Mononitrato de tiamina: 4-40 %;

El agente reivindicado y las composiciones basadas en el mismo pueden ampliar la gama de candidatos farmacéuticos que pueden usarse para aumentar la resistencia al estrés, reducir la ansiedad, los trastornos emocionales y también actuar como antidepresivos. Además, el ascorbato de litio tiene un efecto antiestrés, ansiolítico y antidepresivo, y el mononitrato de tiamina y el clorhidrato de piridoxina también tienen un efecto beneficioso sobre el sistema nervioso central y periférico. La tiamina optimiza la actividad cognitiva y la función cerebral.

El clorhidrato de piridoxina juega un papel importante en el metabolismo y participa en la síntesis de los neurotransmisores. En conjunto, esto da como resultado un efecto sinérgico al potenciar el efecto antiestrés, ansiolítico y antidepresivo de la composición, y conduce a una alta eficacia de la composición reivindicada basada en ascorbato de litio administrado en pequeñas dosis.

Como se muestra más abajo, los intervalos de sustancia reivindicados de las composiciones en una de las variantes de implementación preferentes de la composición basada en ascorbato de litio, proporcionan actividad antiestrés, ansiolítica y antidepresiva en diversas relaciones de los componentes en los intervalos reivindicados. Sin embargo, estos intervalos de componentes en las composiciones reivindicadas no son estrictamente esenciales, ya que con las composiciones de componentes farmacéuticamente aceptables de ascorbato de litio, clorhidrato de piridoxina y mononitrato de tiamina, el agente y la composición reivindicados serán suficientemente efectivos para la actividad antiestrés, ansiolítica y antidepresiva.

Descripción detallada de la invención

Los efectos antiestrés, ansiolíticos y antidepresivos del agente reivindicado y las composiciones basadas en el mismo, se determinaron de la siguiente manera.

Para confirmar una aplicación potencial del ascorbato de litio como agente con efecto antiestrés, ansiolítico y antidepresivo, se llevaron a cabo pruebas estándar de estrés en ratas Wistar blancas, una raza común que se ha usado comúnmente para estudios preclínicos de nuevos candidatos farmacéuticos:

1. La prueba de suspensión. Se usaron cinco animales de cada grupo. Cada animal se suspendió durante 24 horas. Posteriormente, se tomó la muestra de sangre completa de los vasos sublinguales de ese animal. Luego el animal se colocó en un desecador con éter dietílico. 60 minutos después se realizó una decapitación espinal del animal. Se realizó la abertura abdominal y se contó el número de úlceras en la superficie interna del estómago. La sangre completa obtenida se colocó en dos tubos de ensayo. Se usó la sangre completa para determinar el número de eosinófilos mediante el método de Duncker. Se usó suero para determinar la composición bioquímica de la sangre. Se determinaron la adrenalina y la noradrenalina como índices bioquímicos. Estas características son marcadores específicos que identifican el impacto de los factores de estrés de diversas etiologías.

2. La prueba de simulación de estrés por transporte. Se usaron cinco animales de cada grupo. Los animales se colocaron en jaulas fijadas a una persiana de laboratorio. La duración de la prueba fue de 240 minutos. Al final de la prueba, los animales se examinaron mediante las técnicas descritas en el punto 1. Se tomó una muestra de sangre completa para determinar el número de eosinófilos mediante el método de Duncker. Se estudió el suero sanguíneo para medir la cantidad de enzimas: alanina aminotransferasa (ALT), aspartato aminotransferasa (AST), creatinina.

Las pruebas se llevaron a cabo en ratas de la línea Wistar de 2 meses de edad. Los grupos se seleccionaron de acuerdo con el principio de homólogos pareados. Con este propósito, se formaron seis grupos de animales, de 30 animales cada uno:

grupo núm. 1 - control (las ratas reciben agua);
 grupo núm. 2 - experimental, dosis de ascorbato de litio de 120 mg/kg de peso corporal del animal;
 grupo núm. 3 - experimental, dosis de ascorbato de litio de 60 mg/kg de peso corporal del animal;
 grupo núm. 4 - experimental, dosis de ascorbato de litio de 30 mg/kg de peso corporal del animal;
 grupo núm. 5 - ratas intactas (no involucradas en las pruebas, que se desarrollan naturalmente en las mismas condiciones de mantenimiento en el animalario);
 grupo núm. 6 - experimental, dosis de ascorbato de litio de 60 mg/kg de peso corporal del animal, administrada en pastillas (las pastillas tenían una masa total de 0,2-0,25 g y se usó manteca de cacao como excipiente).

Durante el transcurso del estudio los animales se seleccionaron a partir de los grupos formados de 10 animales cada uno para participar en las pruebas de estrés, 5 animales por prueba. La selección se realizó los días 7, 14 y 21 de la administración del fármaco (los experimentos se realizaron los mismos días, justo después de la selección). Los animales se pesaron semanalmente, inmediatamente antes de la prueba. Los datos obtenidos se procesaron mediante métodos estadísticos de estadística matemática.

El fármaco se administró en solución, a los animales de los grupos 2, 3 y 4, a través de una sonda gástrica. Como solvente se usó agua para inyección producida por "Bufus Novosibkhimpharm". El volumen introducido fue de 1,5 ml. La solución se introdujo al mismo tiempo 2 horas después de la alimentación de la mañana. Al primer grupo se le administró agua para inyección de la misma manera. El volumen de administración fue de 1,5 ml.

La eficacia y seguridad del ascorbato de litio como agente antiestrés, ansiolítico y antidepresivo quedó respaldada por los siguientes ejemplos.

Ejemplo 1. Método de estudio de la actividad antiestrés y ansiolítica - una prueba de suspensión.

Durante la prueba se observó un cambio en la reacción de los animales durante la administración prolongada de la preparación. Se realizaron tres secuencias del experimento con una periodicidad de 7 días. El fármaco se administró diariamente desde el primer día del estudio, sin interrupción. Por tanto, se produjo la acumulación del fármaco en el cuerpo del animal. Se usaron cinco animales de cada grupo en cada secuencia del experimento (los animales se

suspendieron durante 24 horas). Posteriormente se tomaron muestras de sangre de los vasos sublinguales. Además, el animal se sacrificó con éter dietílico. Se realizó la decapitación y la disección de la cavidad abdominal para calcular el número de úlceras en la superficie interna del estómago. Las ratas, como objetos para el estudio de los psicofármacos, son un modelo exitoso. Ellas reaccionan rápidamente a diversos factores de estrés. Es conveniente evaluar la eficacia de los fármacos debido a diversos factores, comenzando por parámetros fisiológicos, del comportamiento, bioquímicos y otros. En la prueba de suspensión, es posible determinar, además de la resistencia física, el estado psicoemocional general del animal.

Una prueba de suspensión permite determinar la capacidad del cuerpo para adaptarse rápidamente a impactos adversos a largo plazo, evaluar la resistencia física, estudiar el estado del comportamiento y evaluar la capacidad de adaptación (mediante la demostración de actividad psicoestimulante). Durante el estudio se encontró que el ascorbato de litio aumenta la resistencia física. Los animales de experimentación, en comparación con los de control, en condiciones igualmente desfavorables, intentaron adaptarse a ellas de manera más rápida y eficiente. Los animales tratados con ascorbato de litio intentaron alcanzar el punto de acoplamiento (en la zona de la cruz) con sus extremidades delanteras y fijar la posición del cuerpo con las patas delanteras. Algunos animales intentaron liberarse mediante movimientos de traslación. Por tanto, los animales mostraron un efecto antiestrés y ansiolítico del ascorbato de litio, que redujo el impacto del factor de estrés. Los animales de control, por el contrario, en la primera etapa se retorcieron en todo el cuerpo, agitaban sus extremidades al azar y, cuando llegaban al agotamiento, se quedaban colgados sin ningún movimiento. El número de actos de defecación de los animales de control fue de 3-4 veces mayor que el de los animales tratados con composiciones de ascorbato de litio.

Las características fisiológicas, morfológicas y bioquímicas, tales como la determinación de las úlceras en el estómago, eosinófilos en sangre completa, adrenalina y noradrenalina en el suero sanguíneo, se estimaron como indicadores principales y más informativos de la aparición de un estado de estrés en un organismo vivo y de su impacto general en el cuerpo. Una parte de la muestra de sangre completa se usó para contar los eosinófilos mediante la prueba de Duncker. La otra parte de la muestra de sangre se usó para producir el suero, para determinar la adrenalina y la noradrenalina. Los datos se muestran en las Tablas 1, 2, 3. En base a los datos agregados obtenidos al probar la eficacia antiestrés del ascorbato de litio, se puede concluir que la administración oral de soluciones acuosas de ascorbato de litio conduce verdaderamente a una rápida adaptación del cuerpo al estrés. La primera prueba realizada 7 días después dio resultados ligeramente superiores a los del grupo intacto (grupo #5), pero los datos de la segunda prueba (14 días después del inicio del experimento) fueron cercanos a los del grupo intacto, los resultados se obtuvieron a casi todas las dosis. También hay que señalar que todas las características medidas en todas las pruebas fueron 2,5-3,5 veces y, en el caso del recuento de úlceras, fueron más de 10 veces superiores a las del grupo de control (grupo #1). Una disminución en el nivel de las hormonas del miedo - adrenalina y noradrenalina - de 3,5-4 veces indica una acción ansiolítica expresada del ascorbato de litio. Los datos obtenidos permiten extraer una conclusión inequívoca sobre la alta actividad antiestrés y ansiolítica del ascorbato de litio.

Ejemplo 2. Prueba de simulación de estrés por transporte para estudiar la actividad antiestrés, ansiolítica y antidepresiva.

Como modelo para simular el estrés por transporte se usó el agitador universal rotatorio Unimax 10. La velocidad de rotación se eligió a 120 rpm durante 240 min. En el sitio se fijó una jaula con cinco animales. Las ratas permanecieron en la jaula en estado libre. Se observó un cambio en la reacción de los animales con la administración prolongada del fármaco. El proceso de muestreo y decapitación se describe en el Ejemplo 1. Se determinaron parámetros sanguíneos fisiológicos, morfológicos y bioquímicos como marcadores del impacto del estrés en los animales, tales como: comportamiento individual y grupal de los animales, número de actos de enuresis, número de actos de defecación y número de bolos de excremento; se midieron los eosinófilos en sangre completa de acuerdo con Duncker y los niveles de enzimas ALT, AST y creatinina en el suero sanguíneo. El estrés por transporte es un ejemplo sorprendente del efecto tecnológico en el cuerpo humano y animal. Durante un corto período de exposición, los animales no tuvieron tiempo de desarrollar propiedades adaptativas para compensar ese efecto. Por tanto, resulta más adecuado como un indicador para la observación del ejemplo clásico del desarrollo del síndrome adaptativo de Selye. En el experimento se simula el impacto del transporte en las ratas con ayuda de una persiana de laboratorio. Las vibraciones circulares progresivas de 4 horas de duración afectaron negativamente a los animales. Las ratas del grupo de control se movían constantemente, chocaban entre sí al intentar concentrarse en las esquinas, donde la amplitud de la oscilación era mayor. Al mismo tiempo, el número de actos de defecación fue mayor. Los animales se comportaron agresivamente. Los más fuertes intentaron sacar de las esquinas al animal más débil. Los datos se muestran en la Tabla 4. El comportamiento de los animales en los grupos experimentales fue diferente. Hubo una interacción social pronunciada y la capacidad de los animales para reaccionar más rápidamente al cambio de exposición. Los animales intentaron encontrar un lugar con la vibración más ligera. Al mismo tiempo se reunieron en grupos, se levantaron sobre sus extremidades traseras e intentaron moverse junto con la plataforma. Este comportamiento indica que los animales carecían de miedo y ansiedad. Al intentar adaptarse a estas condiciones, los animales se movían menos en el sitio y se agrupaban para reducir el impacto negativo. El número de actos de enuresis y defecación fue significativamente menor. Tal comportamiento de los animales, así como también los parámetros morfológicos de la sangre completa, tal como los eosinófilos, indican un efecto ansiolítico pronunciado del ascorbato de litio. La eosinopenia es una característica de los factores estresantes de

diversas etiologías, como se evidencia en la información del tema de la disertación y resumen para el VAC 14.00.16, 2003 del Dr. O.A Makarova "Stress-induced disturbances in the blood system and their correction by mediators and metabolites of the stress-limiting systems". Los estudios hematológicos realizados después de la exposición al estrés mostraron que en el grupo de control el número de eosinófilos disminuyó más de 2 veces en comparación con los animales intactos. En los grupos experimentales la disminución fue menos marcada y dependió de las dosis de ascorbato de litio. Los resultados del estudio se muestran en las Tablas 4; 5; 6.

El efecto antidepresivo del ascorbato de litio se observó claramente en base a la condición y el comportamiento de los animales de experimentación y de control. Después de una exposición prolongada al estrés por transporte, las ratas del grupo de control mostraron total indiferencia y apatía hacia lo que sucedía a su alrededor. Después de que se detuvo el experimento, los animales descansaron indiferentemente y no demostraron ninguna acción dirigida a su defensa. Los actos de defecación se volvieron desordenados y las heces no eran pronunciadas. Los animales defecaban y orinaban en el mismo lugar donde yacían y no intentaban buscar un lugar más conveniente. Las ratas tratadas con ascorbato de litio mostraron actividad motora después del experimento, a pesar de la posición inestable de su cuerpo. Intentaron agazaparse en la jaula junto al caño para beber, sin mostrar agresión, pero manteniendo el dominio. Durante los intentos de sacar a un animal de la jaula, este se resistió y trató de esconderse. Por tanto, los instintos de hambre y de conservación no se suprimieron en los grupos experimentales.

Con base en los estudios realizados, puede afirmarse que el ascorbato de litio es un fármaco antiestrés. Los resultados obtenidos en esta prueba confirman las conclusiones anteriores del Ejemplo 1 sobre la alta actividad antiestrés y ansiolítica del ascorbato de litio, y se complementan con datos que permiten establecer el efecto antidepresivo del ascorbato de litio.

Ejemplo 3. Eficacia del ascorbato en pequeñas dosis

Durante la acumulación del ascorbato de litio en el cuerpo de los animales de experimentación, la respuesta del cuerpo al estrés no dependió mucho de la dosis de administración, al menos en los intervalos de dosis probados. La dosis de 30 mg/kg de peso corporal superó ligeramente la eficacia de la dosis de 60 mg/kg. La dosis de 120 mg/kg fue menos efectiva. Además, la 2^{da} y la 3^{ra} prueba (en los días 14 y 21 a partir del inicio del estudio) mostraron una diferencia significativa entre los resultados obtenidos con dosis de 30 mg/kg y 120 mg/kg, del 3 % al 10 % en promedio (Tablas 1, 2, 3). Por tanto, puede concluirse que el ascorbato de litio es más efectivo en dosis pequeñas.

Ejemplo 4. Eficacia de formas prolongadas de ascorbato de litio

A uno de los grupos de estudio se le administró la preparación en forma de pastillas (con manteca de cacao como excipiente) en una dosis de 60 mg/kg. Esta variante sugería una forma de administración menos estresante y un tipo de efecto prolongado del litio. Los resultados obtenidos (Tabla 1-5) sugieren que la tasa de acumulación de litio fue más lenta en comparación con una solución acuosa de la misma dosis administrada por vía oral. La actividad de esta forma de administración al 7^{mo} día fue menor. Pero en los días de administración 14 y 21, las condiciones de los animales que recibieron ascorbato de litio en forma de bolos (pastillas) con manteca de cacao fueron comparables a las de los animales intactos y en algunos casos superaron los resultados obtenidos con la administración oral de la solución de ascorbato de litio. Por tanto, el efecto de las formas prolongadas se considera efectivo con una exposición prolongada y se caracteriza por la acumulación de ascorbato de litio y un efecto beneficioso duradero sobre el metabolismo. Un aumento del peso de los animales en el Grupo 6 y un aumento de la creatinina en sangre indican un aumento de la masa muscular. No había emaciación del cuerpo, que podría conducir a la distrofia. La respuesta adecuada del cuerpo al estrés de diversas etiologías, la acumulación de la reserva de energía del cuerpo condujo a un aumento del tejido muscular, sin un aumento brusco de la grasa subcutánea (tejido adiposo). Por tanto, el animal creció y se desarrolló a pesar del estrés.

Las formas farmacéuticas de liberación prolongada, permiten una reducción significativa en la frecuencia de dosificación, por tanto, aumenta el cumplimiento terapéutico por parte del paciente. La liberación suave y lenta del ascorbato de litio a partir de formas farmacéuticas prolongadas permite evitar aumentos bruscos de las concentraciones de litio en sangre y, en cambio, proporciona concentraciones de litio en sangre uniformes durante un largo período de tiempo, lo que da como resultado la formación de concentraciones de litio efectivas en los órganos diana.

Ejemplo 5. Determinación de la toxicidad aguda del ascorbato de litio

Se estudiaron los parámetros de toxicidad aguda de la preparación de ascorbato de litio en forma de solución. Los experimentos se realizaron en ratas Wistar macho de 4 meses de edad que pesaban entre 180,0-200,0 g. Los animales se seleccionaron y distribuyeron en grupos de acuerdo con el principio de análogos pareados y permanecieron en condiciones idénticas de alimentación y mantenimiento.

Antes del inicio del estudio, los animales se mantuvieron en cuarentena durante 12 días y, antes de la administración de las composiciones, se le sometió a una privación durante 24 h. En cada serie de experimentos se formaron 8 grupos de animales con 6 animales en cada grupo.

En la primera serie de experimentos se determinó la toxicidad aguda del ascorbato de litio cuando se administra por vía oral. La LD50 (la dosis letal promedio, es decir, la dosis a la que murió el 50 % de las ratas) se calculó mediante el método de Kerber. La sustancia se administró una vez por vía oral en dosis de 1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 6000, 7000, 8000 mg/kg de peso corporal. El volumen de la sustancia introducida fue de 2,0 ml por rata (el volumen máximo permitido para la administración oral) por vía intragástrica con una sonda metálica especial. El volumen de ascorbato de litio administrado a los animales se ajustó con agua para inyección. Los criterios para evaluar la toxicidad fueron el desenlace letal y la naturaleza del cuadro clínico. Los datos obtenidos durante el experimento con los animales de laboratorio se presentan en las Tablas 7, 8.

Los resultados de los dos métodos de determinación de LD50 confirman la viabilidad de cualquiera de ellos, ya que las diferencias no superan el 0,1 %, en dependencia del método adoptado como estándar.

Los datos obtenidos permitieron determinar los parámetros de la toxicidad aguda del ascorbato de litio. Por tanto, para las ratas blancas de la línea Wistar fueron: LD50 - 6334 mg/kg, LD100 - 8000 mg/kg. Así, el ascorbato de litio pertenece a la clase 5 de fármacos "prácticamente no tóxicos" LD50 $\geq$ 5000 mg/kg de acuerdo con la tabla de distribución de fármacos. Al comparar las dosis desde 30 mg/kg a 120 mg/kg, en las que el ascorbato de litio mostró un efecto antiestrés y ansiolítico, y teniendo en cuenta el alto nivel de LD50 para el ascorbato de litio (6334 mg/kg), concluimos que el ascorbato de litio tiene un amplio intervalo terapéutico y baja toxicidad. En comparación, la LD50 del carbonato de litio es 531 mg/kg (documento de Badman A.L., y otros, Vredniye khimicheskiye veshchestva: Neorganicheskiye soedineniya elementov of I-IV grupp, un manual editado por V. A. Filov y otros: Khimiya, 1988. págs. 25-26).

Las Tablas 1-8, más abajo, contienen datos obtenidos en los Ejemplos mencionados anteriormente.

Tabla 1. Número de úlceras identificadas en el estómago en la prueba de resistencia física (la prueba de suspensión)

Grupo núm.	Número de úlceras en el estómago		
	Día de administración 7	Día de administración 14	Día de administración 21
1	23,5 $\pm$ 0,9	21,2 $\pm$ 0,2	21,2 $\pm$ 0,2*
2	4,0 $\pm$ 0,5*	2,5 $\pm$ 1,1*	2,1 $\pm$ 0,7
3	4,1 $\pm$ 0,8	2,6 $\pm$ 0,4	2,4 $\pm$ 0,5
4	4,5 $\pm$ 0,9	2,4 $\pm$ 0,2*	1,9 $\pm$ 0,4
5	1,0 $\pm$ 0,1	1,5 $\pm$ 0,5	1,0 $\pm$ 0,5
6	8,7 $\pm$ 1,2	1,6 $\pm$ 0,9	1,5 $\pm$ 0,6*
(*p < 0,05 cuando se compara con el control mediante la prueba de la t) 1 - el grupo de control; 2 - ascorbato de litio 120 mg/kg; 3 - ascorbato de litio 60 mg/kg; 4 - ascorbato de litio 30 mg/kg; 5 - el grupo intacto; 6 - 60 mg/kg en forma de pastillas con cacao.			

Tabla 2. Determinación del recuento de eosinófilos en sangre completa mediante Duncker (la prueba de suspensión)

Grupo núm.	Recuento de eosinófilos en sangre completa		
	Día de administración 7	Día de administración 14	Día de administración 21
1	311,6 $\pm$ 5,8	285 $\pm$ 1,5	291 $\pm$ 0,2
2	768 $\pm$ 6,7	885 $\pm$ 3,8	911 $\pm$ 8,2
3	791 $\pm$ 1,2*	866 $\pm$ 9,4	910 $\pm$ 4,1*
4	764 $\pm$ 6,5	897 $\pm$ 7,2	954 $\pm$ 9,7
5	953 $\pm$ 2,9	975 $\pm$ 0,5	981 $\pm$ 5,4
6	653 $\pm$ 9,2	913 $\pm$ 0,9*	954 $\pm$ 3,6
(*p < 0,05 cuando se compara con el control mediante la prueba de la t) 1 - el grupo de control; 2 - ascorbato de litio 120 mg/kg; 3 - ascorbato de litio 60 mg/kg; 4 - ascorbato de litio 30 mg/kg; 5 - el grupo intacto; 6 - 60 mg/kg en forma de pastillas con cacao.			

Tabla 3. Determinación del nivel de adrenalina y noradrenalina en el suero sanguíneo (la prueba de suspensión)

Grupo núm.	Nivel de adrenalina y noradrenalina en el suero sanguíneo					
	Día de administración 7		Día de administración 14		Día de administración 21	
	Adrenalina μ g/l	Noradrenalina μ g/l	Adrenalina μ g/l	Noradrenalina μ g/l	Adrenalina μ g/l	Noradrenalina μ g/l
1	27,1 $\pm$ 3,91	68,6 $\pm$ 1,52	28,3 $\pm$ 1,27	68,9 $\pm$ 9,41	27,7 $\pm$ 2,46	70,5 $\pm$ 3,54
2	7,6 $\pm$ 0,38	20,2 $\pm$ 5,67	8,7 $\pm$ 3,82	20,3 $\pm$ 4,83	9,6 $\pm$ 3,28	18,4 $\pm$ 5,27
3	7,9 $\pm$ 0,21	22,1 $\pm$ 1,98	7,1 $\pm$ 1,19	20,3 $\pm$ 3,49	7,3 $\pm$ 2,14*	19,3 $\pm$ 6,13
4	8,1 $\pm$ 0,52	24,3 $\pm$ 2,2	6,9 $\pm$ 2,77	18,2 $\pm$ 5,28	6,9 $\pm$ 0,97*	17,9 $\pm$ 0,95*
5	6,7 $\pm$ 0,65	18,6 $\pm$ 1,95	6,1 $\pm$ 0,51	17,9 $\pm$ 0,85	6,4 $\pm$ 2,42	17,2 $\pm$ 0,56
6	22,6 $\pm$ 4,27	54,8 $\pm$ 10,4	6,7 $\pm$ 0,96*	18,4 $\pm$ 0,49	7,9 $\pm$ 3,61	17,8 $\pm$ 0,98*
(*p < 0,05 cuando se compara con el control mediante la prueba de la t) 1 - el grupo de control; 2 - ascorbato de litio 120 mg/kg; 3 - ascorbato de litio 60 mg/kg; 4 - ascorbato de litio 30 mg/kg; 5 - el grupo intacto; 6 - 60 mg/kg en forma de pastillas con cacao.						

Tabla 4. Efecto de diferentes dosis de ascorbato de litio sobre el número de bolos en la defecación

Grupo núm.	Día de administración 7		Día de administración 14		Día de administración 21	
	Número de bolos		Número de bolos		Número de bolos	
1	8,6±1,4		10,1±2,7*		11,6±1,9	
2	5,0±1,1*		4,1±1,1		4,0±1,0	
3	4,6±0,4		3,9±0,4*		3,7±0,7	
4	4,2±0,4		3,9±0,4*		3,5±0,3*	
5	3,6±0,7		3,8±0,4		3,5±0,7	
6	7,2±1,5*		5,2±0,9		3,7±0,3	

(*p < 0,05 cuando se compara con el control mediante la prueba de la t) 1 - el grupo de control; 2 - ascorbato de litio 120 mg/kg; 3 - ascorbato de litio 60 mg/kg; 4 - ascorbato de litio 30 mg/kg; 5 - el grupo intacto; 6 - 60 mg/kg en forma de pastillas con cacao.

Tabla 5. Determinación del recuento de eosinófilos en sangre completa mediante Duncker (la prueba de simulación de vehículo).

Grupo núm.	Recuento de eosinófilos en sangre completa		
	Día de administración 7	Día de administración 14	Día de administración 21
1	428 ± 11,2	401 ± 8,1	425 ± 6,9
2	856 ± 4,2*	901 ± 16,8	907 ± 4,3*
3	822 ± 8,7	919 ± 4,1*	922 ± 9,3
4	794 ± 6,9	921 ± 9,1	928 ± 10,7
5	978 ± 5,1	991 ± 0,6	979 ± 3,8
6	528 ± 5,8	938 ± 11,7	947 ± 12,4

(*p < 0,05 cuando se compara con el control mediante la prueba de la t) 1 - el grupo de control; 2 - ascorbato de litio 120 mg/kg; 3 - ascorbato de litio 60 mg/kg; 4 - ascorbato de litio 30 mg/kg; 5 - el grupo intacto; 6 - 60 mg/kg en forma de pastillas con cacao.

Tabla 6. Efecto del ascorbato de litio sobre la actividad de aminotransferasas y creatinina en la sangre (la prueba de simulación de vehículo)

Grupo núm.	Cantidad de aminotransferasa y creatinina en el suero sanguíneo								
	Día de administración 7			Día de administración 14			Día de administración 21		
	AST	ALT	Creatinina	AST	ALT	Creatinina	AST	ALT	Creatinina
1	41,3± 3,10	13,2± 5,97	19,4± 2,45	40,9± 4,92	13,5± 4,84	17,9±5,31	42,0± 6,17	14,0± 4,91	19,1± 2,12
2	107,1± 6,20	32,4± 7,75	39,8± 6,13*	110,3± 7,41*	31,7± 7,32	47,8±1,46	118,7± 4,48*	30,1± 7,42	42,1± 2,97*
3	97,9± 5,04*	31,0± 3,15*	39,6±7, 98	112,4± 6,23	33,1± 2,84*	48,3±8,27*	115,5± 8,97	32,4± 6,37	45,6± 2,73 *
4	91,7± 7,29	29,8± 8,45	36,5±3, 84*	109,9± 9,67	32,1± 9,10	48,1±3,82	121,2± 7,21	31,7± 3,14*	46,3± 3,26
5	129,5± 7,33	36,3± 2,64	48,8±4, 50	131,3± 7,48	38,1± 1,49	50,1±4,86	128,7± 3,26	36,9± 3,87	49,2± 4,61
6	68,8± 4,72*	22,7± 8,19	25,7±4, 30	119,7± 6,21*	34,8± 6,83	56,7±6,44*	121,± 4,29*	35,0± 4,29	58,4± 9,30*

(*p < 0,05 cuando se compara con el control mediante la prueba de la t) 1 - el grupo de control; 2 - ascorbato de litio 120 mg/kg; 3 - ascorbato de litio 60 mg/kg; 4 - ascorbato de litio 30 mg/kg; 5 - el grupo intacto; 6 - 60 mg/kg en forma de pastillas con cacao.

Tabla 7. Determinación de la dosis letal media de ascorbato de litio en ratas (mediante Kerber)

Dosis, mg/kg	1000	2000	3000	4000	5000	6000	7000	8000
Sobrevivientes	6	6	6	6	5	3	3	0
Muertos	0	0	0	0	1	3	3	6
Z	0	0	0	0,5	2	3	4,5	
D	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	
Z*d	0	0	0	500	2000	3000	4500	
$\sum Z*d = 10\ 000$								
LD50=LD100 -	$\sum(Z*D)$	=8000 - 1667 = 6333						
n								
LD50 = LD100 - $\sum(zd)/n$, donde LD100 es la dosis que causó un efecto en todos los objetos de prueba de un grupo; D es el intervalo entre dos dosis adyacentes; Z - la media aritmética de los dos valores del número del objeto de prueba que mostró un efecto positivo cuando se expuso a cada una de las dos dosis adyacentes; n es el número de objetos de prueba en el grupo.								

Tabla 8. Determinación de la dosis letal media de ascorbato de litio en ratas Wistar (mediante Pershin)

Dosis, mg/kg	1000	2000	3000	4000	5000	6000	7000	8000
Muertos/sobrevivientes	0/6	0/6	0/6	0/6	115	3/3	3/3	6/0
Muertos, %	0	0	0	0	16,6	50	50	100
Dosis total en pie, A	3000	5000	7000	9000	11 000	13 000	15 000	
Diferencia % de muertos, B	0	0	0	16,6	33,4	0	50	
(A * B)	0	0	0	149 400	367 400	0	750 000	
$\sum (A * B) = 1\ 266\ 840$								
LD ₅₀ =			1 266 840			= 6334 mg/kg		
200								

Los ejemplos de las composiciones basadas en ascorbato de litio se describen más abajo.

Los siguientes ejemplos ilustran las opciones de implementación de la invención.

Ejemplo 6.

Usamos una composición que contiene ascorbato de litio y vitaminas: clorhidrato de piridoxina - B6 y mononitrato de tiamina - B1 en una solución acuosa en diferentes relaciones de porcentaje.

Se determinaron las eficacias antiestrés, ansiolítica y antidepresiva de las composiciones con diferentes relaciones de ascorbato de litio y vitamina B1 y B6.

Se formaron cuatro grupos de animales. Las composiciones se administraron por vía oral en una solución acuosa. Las concentraciones de las relaciones fueron las siguientes:

El Grupo (1) recibió 10 % de ascorbato de litio, 55 % de vitamina B6 y 35 % de vitamina B1.

El Grupo (2) - 50 % de ascorbato de litio, 30 % de vitamina B6 y 20 % de vitamina B1.

El Grupo (3) - 65 % de ascorbato de litio, 20 % de vitamina B6 y 15 % de vitamina B1.

El Grupo (4) - 90 % de ascorbato de litio, 6 % de vitamina B6 y 4 % de vitamina B1.

El Grupo (5) - el grupo de control recibió solo agua para inyección.

La agitación neuropsiquiátrica implica el carácter y la intensidad del movimiento del animal en la arena. Depende de diversos factores estresantes (por ejemplo, un entorno inusual para un animal) en combinación con una actividad exploratoria natural y se usa para diagnosticar el estado funcional del sistema nervioso cuando se expone a factores ambientales naturales y experimentales. Los indicadores de aumento de la ansiedad y el estrés son el número de bolos y actos de acicalamiento, el nivel de actividad exploratoria, la movilidad y los niveles de curiosidad o apatía general, que se correlacionan con el nivel de depresión. Las pruebas realizadas mostraron que los parámetros estudiados se correlacionaban bien con los resultados de otras pruebas de comportamiento.

Como objetos modelo se usaron ratas Wistar blancas macho, que pesaban entre 130-170 g. Los animales se mantuvieron en habitaciones idénticas en jaulas para 10 ratas cada una, a una temperatura de 19-21 °C. Los animales se alimentaron diariamente con forraje mixto, 30-40 g por cada uno. El agua estaba disponible sin restricciones. En el estudio participaron cuarenta animales. Los animales se dividieron en cuatro grupos de 10 animales en cada uno. La composición se administró durante 5 días. El comportamiento del animal se investigó en la prueba de "campo abierto". Los animales se colocaron en un campo abierto (un sitio piloto) después de 5 días de administración. Los animales se colocaron en el mismo cuadro, ubicado cerca de la pared. El tiempo de exposición de cada modelo animal fue de 5 minutos.

Tabla 9. Efecto de la composición sobre el comportamiento de las ratas en la prueba de "campo abierto" después de 5 días de administración

Grupo	Actividad motora vertical	Actividad motora horizontal	Número de atisbos en un agujero	Número de actos de acicalamiento	Número de llegadas a una zona central	Número de bolos
1	17,24±4,86*	5,56±1,24	4,76±2,41	17,25±3,61	1,21±1,82	5,14±0,23
2	27,32±2,87	6,18±0,42	9,32±3,13	9,43±4,12	3,12±2,17	2,12±0,48
3	29,46±3,74	6,75±0,68	9,98±0,96*	8,44±4,76	2,84±0,14	2,54±0,68
4	21,09±1,95	7,78±0,46	5,85±0,96*	11,68±4,76	1,69±0,14	4,83±0,24
5	7,21±2,75	3,48±0,75	2,96±0,42	23,47±2,38	0,9±0,42	6,46±0,16

Los resultados obtenidos muestran que:

la composición exhibe la actividad mencionada al comparar los resultados obtenidos en los grupos experimentales y de control;
el intervalo efectivo de las relaciones de agentes activos en la composición es bastante amplio, pero la eficacia

máxima de la composición se logra con una relación de 65 % de ascorbato de litio, 20 % de vitamina B6 y 15 % de vitamina B1;

5 la eficacia de la composición disminuyó con un aumento de la proporción de ascorbato de litio y una disminución de la proporción de vitaminas, así como también con un aumento de la proporción de vitaminas y la disminución de la proporción de ascorbato de litio, por tanto, se sugiere el efecto sinérgico de las sustancias usadas en la composición.

10 Por tanto, el uso de una sustancia que contiene litio en forma de ascorbato de litio como agente con efecto antiestrés, ansiolítico y antidepresivo y una composición a base del mismo, permite ampliar la gama de agentes para la administración indicada. Al mismo tiempo, los agentes reivindicados tienen baja toxicidad y alta eficacia.

REIVINDICACIONES

1. Una composición que comprende ascorbato de litio para su uso en el alivio y tratamiento del estrés, la ansiedad o la depresión en un sujeto.
5
2. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la composición comprende además clorhidrato de piridoxina y mononitrato de tiamina.
3. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 2, en donde los componentes de la composición están presentes dentro de la composición en las siguientes relaciones porcentuales de masa:
10
 10-90 % de ascorbato de litio;
 6-50 % de clorhidrato de piridoxina;
 4-40 % de mononitrato de tiamina.
15
4. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 3, en donde la composición comprende además sorbitol o maltodextrina o talco como excipientes.
5. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 3, en donde la composición comprende además manteca de cacao.
20