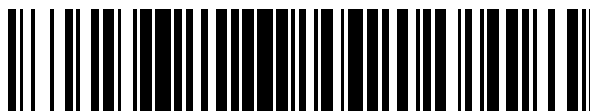


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 377 192**

51 Int. Cl.:
A61K 36/23 (2006.01)
A61K 36/076 (2006.01)
A61K 36/736 (2006.01)
A61K 36/65 (2006.01)
A61K 36/54 (2006.01)
A61P 15/00 (2006.01)
A61P 3/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **01402366 .7**
96 Fecha de presentación: **13.09.2001**
97 Número de publicación de la solicitud: **1188442**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **20.03.2002**

54 Título: **Composición de Cinnamomi y Poria, procedimiento para preparar la misma y uso de la misma**

30 Prioridad:
13.09.2000 WO PCT/CN00/00273

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
23.03.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
23.03.2012

73 Titular/es:
**JIANGSU KANION PHARMACEUTICAL CO., LTD.
58 SOUTH HAICHANG ROAD, XINPU,
LIANYUNGANG
JIANGSU, P.R. CHINA 222001, CN**

72 Inventor/es:
Xiao, Wei

74 Agente/Representante:
Álvarez López, Fernando

ES 2 377 192 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 de Cinnamomi y Poria, procedimiento para preparar la misma y uso de la misma

5 ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

Los cólicos menstruales y el sangrado uterino disfuncional son trastornos comunes entre las mujeres durante su periodo menstrual. Los cólicos menstruales afectan hasta el 40 por ciento de las mujeres adultas e incapacitan temporalmente a una décima parte de ellas.

10

Los cólicos menstruales, o dismenorrea en términos de medicina, es la recurrencia de cólicos uterinos dolorosos durante la menstruación. El cólico duele o molesta en el abdomen bajo, la espalda baja y el interior de los muslos, también pueden observarse náuseas, vómitos, dolor de cabeza, diarrea o fatiga. Normalmente tiene una aparición de 2-12 horas antes del inicio del flujo menstrual y disminuye gradualmente durante día o los dos días siguientes.

15

La dismenorrea primaria toma parte la mayoría de los casos, en los que no pueden observarse lesiones no patológicas en un examen pélvico o laparoscópico. Aunque no es específica la etiología exacta, en la actualidad recientes avances en la bioquímica de las prostaglandinas, para encontrar productos químicos y sus funciones en la patofisiología, han establecido una base racional en algunos casos. La liberación de prostaglandinas aumenta de forma significativa durante la menstruación en estas mujeres, y la liberación puede suprimirse hasta un nivel normal cuando se proporcionan fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE), ya que los AINE son capaces de inhibir la ciclooxigenasa y la síntesis de prostaglandinas.

20

Además de AINE, los médicos usan comúnmente anticonceptivos orales, antispasmodicos y analgésicos. Algunas personas se introducen en la terapia andrógena. En algunos casos, también se adopta una cirugía menor denominada dilatación y curetaje (D&C), aunque la cirugía es común en la vejez.

25

Asociados con una diversidad de efectos secundarios, la ineficacia y la tolerancia a los fármacos, los tratamientos tradicionales tienen un efecto limitado. Esto explica por qué la dismenorrea primaria todavía es un problema. La presente invención desarrollada a partir de las formulaciones de hierbas más experimentadas en la Medicina Tradicional China (MTC), es un enfoque diferente caracterizado por su eficacia constante y una toxicidad relativamente baja.

30

La composición de Cinnamomi y Poria se sintetiza para proteger a las mujeres de sus padecimientos en algunas de las enfermedades o trastornos pélvicos más comunes. A pesar de la dismenorrea primaria o secundaria y la hemorragia uterina disfuncional causada por una descamación irregular del endometrio uterino, también es eficaz en inflamaciones pélvicas crónicas, y en masas del abdomen inferior inflamatorias e histeromioma intramural pequeño.

35

Al igual que la mayor parte de los productos de la MTC, la composición de Cinnamomi y Poria se prepara a partir de múltiples materiales de hierbas medicinales - las cinco plantas naturales cultivadas. Son Ramulos Cinnamomi, Poria, Cortex Moutan, Radix Paeoniae Alba y Semen Persicae. Diferentes en peso y porciones herbales medicinales para los materiales de partida y las etapas de producción, la composición de Cinnamomi y Poria comparte la misma fórmula de las cinco hierbas con una preparación medicinal previa - Bolo de Cinnamomi y Poria (BCP).

40

El BCP, que se ha probado durante mucho tiempo como una cura eficaz era una muestra de éxito en la práctica medicinal de la antigua China. La fórmula de las cinco se adquirió de <Jinkui Summary>, una guía compilada por el famoso practicante de la MTC Zhongjing Zhang, hace unos mil años. También se recoge en muchos recursos de directorios de medicina, tales como el "Traditional Chinese Medicine Dictionary".

45

Con diferentes etapas de preparación, la fórmula de las cinco siempre se aplica en combinación con otras hierbas medicinales. Se reivindica la variedad de tratamientos de enfermedades y trastornos que incluyen muchas indicaciones en la presente invención.

50

En comparación, mientras se prepara el BCP mediante la extracción de una solución en agua de hierbas - una manera más tradicional en la práctica de TCM, la presente invención se produce mediante tecnologías actualizadas que pueden preservar mejor sus eficaces ingredientes. La composición de Cinnamomi y Poria se desarrolló en 1989, y ha obtenido el Certificado de Nuevo Producto Medicinal Permitido por las autoridades en China.

55

Con respecto a los materiales de hierbas medicinales y sus ingredientes que se incluyen en la presente invención, una diversidad de patentes de Estados Unidos y bibliografías indican procedimientos para la composición de composiciones curativas a partir de hierbas como Cinnamomi y Poria, etc. También se indican una diversidad de informes de China, país del inventor, que estaban en su mayor parte en conexión con investigaciones animales o clínicas para el BCP y cierta realización de una composición de Cinnamomi y Poria.

60

En la Patente de Estados Unidos N° 6093403, la fórmula consiste en un extracto de composición de Poria del 5 al 20% en peso se ha usado como una cura o prevención de trastornos en balance de azúcar, diabetes, y

65

enfermedades de la circulación sanguínea, tales como angina de pecho.

Poria cocos wolf se usa para tratar enfermedades ocurridas en el área del corazón, cerebro-vascular, y para la enfermedad de Alzheimer y la depresión. La patente de Estados Unidos N° 5589182 contiene *Poria cocos wolf* hasta el 20% de su composición en peso.

Durante la fase de la menopausia de muchas mujeres, muchas de ellas pueden experimentar un periodo, que se denomina "Calores". La patente de Estados Unidos N° 58740874, que es una fórmula de hierbas para el tratamiento de mujeres, que están en la fase de los Calores. Esta fórmula de hierbas contiene tanto raíz de peonía como Poria cocos, constituyendo hasta el 13,3% del peso de la fórmula.

La Patente de Estados Unidos N° 5942233, describe una composición que consiste en semen Persicae (hueso de melocotón) hasta el 30% de su peso. Esta fórmula se conoce para su uso en la estimulación sanguínea y el flujo de la energía vital.

Una composición líquida farmacéutica que contiene *Cinnamomi Cortex* se describe en la Patente de Estados Unidos N° 5225203, cuya cantidad es de 66 partes y 56 partes de *Paeoniae Radix* de su peso. Este líquido farmacéutico se usa en hospitales de todo el mundo para tratar pacientes que padecían ictus, arteriosclerosis, hipertensión, taquicardia, disnea, ansiedad, cardiostenosis, convulsiones agudas y crónicas, enfermedad del sistema nervioso autónomo y coma.

Otra composición líquida farmacéutica que contiene *Paeoniae Radix* y *Cinnamomi Cortex* se usa supuestamente en la Patente de Estados Unidos N° 5133964, que presenta una invención que se refiere a la preparación de líquidos de sustancias naturales por vía parenteral y oral para mejorar la estabilidad física. En esta fórmula, contiene aproximadamente 66 mg de *Cinnamomi Cortex* y 56 mg de *Paeoniae Radix*. La fórmula también se usa para los mismos tratamientos que se describen en la patente de Estados Unidos N° 5225203.

En la patente de Estados Unidos N° 4613591 describe un adminículo para agentes antitumorales. La composición consiste tanto en *Cinnamomi Cortex* y *Paeoniae Radix* de 2,0 a 4,0 partes de la fórmula. La composición se usa como una sustancia de control para efectos secundarios y adminículo para mitomicina C y doxorubicina.

Xie, JZ y col. publicaron un artículo en 1986 sobre la influencia del BCP en el flujo sanguíneo de los conejos. Xie dice que el BCP se ha reivindicado durante mucho tiempo por su efecto contra la hipóstasis. En su ensayo en conejos, tanto por administración oral como intravenosa, Xie observó que la viscosidad específica reducida de sangre completa y la viscosidad específica del plasma se reducían, el tiempo de la electroforesis de los RBC se acortaba y el fibrinógeno se reducía.

Tu, ZKS y col., en 1988 informaron de los resultados de su investigación sobre el efecto de la administración oral de BCP en el flujo sanguíneo de 10 cuerpos humanos sanos en sus flujos sanguíneos, las funciones plaquetarias sanguíneas, etc. Los resultados mostraron que la viscosidad de la sangre completa se redujo significativamente después de dos semanas de administración, la coagulación plaquetaria sanguínea inducida por colágeno y ADP y la síntesis de tromboxano B₂ en las plaquetas sanguíneas también se inhibió. Pero, los diagramas de la elasticidad de los trombos no mostraron cambios.

Xie, JZ y col. indicaron el efecto de BCP en el sistema nervioso central en 1987. Xie indicó que la administración oral y la inyección de BCP en ratones conducían a una analgesia suficiente y un efecto de sedación en los animales. Xie indicó adicionalmente que la mitad de la dosis letal era 80,0 ± 10,9 g/kg si se administra a través de inyección subcutánea, y por encima de 250 g/kg si se administra por vía oral.

He, HQ y col. publicaron un artículo en 1994 sobre un estudio clínico de la composición de *Cinnamomi* y *Poria* en 100 casos de ginecopatías: hemorragia uterina disfuncional causada por descamación irregular del endometrio uterino, inflamaciones pélvicas crónicas, dismenorrea e hysteromioma intramural pequeño. En comparación con 50 casos de pacientes que se trataron con BCP, las observaciones sobre múltiples síntomas de queja y signos físicos no demostraron ninguna diferencia significativa entre los dos grupos.

Shi, DM y col. publicaron en 2000 después de observar los efectos terapéuticos de la composición de *Cinnamomi* y *Poria* en 60 pacientes con hysteromioma. Los pacientes aceptaron un examen físico con pruebas de ginecología, examen ultrasónico y hematocromo. La eficacia del tratamiento se definió como una mejora significativa: el tumor se redujo 3-5 cm y el flujo menstrual abundante se redujo el 50% o más; mejora: el tumor se redujo 2-3 cm y el flujo menstrual se reduce el 25% o más, e ineficacia: por debajo de la mejora. Los resultados demostraron en el informe de Shi que se adquirió una tasa eficaz del 91,7%, y entre la cual, el 10% de los casos era de mejora significativa.

En una realización de la invención, se preparó la cápsula de *Cinnamomi* y *Poria* (CCP). Y los estudios preclínicos sobre los efectos farmacológicos de la CCP han demostrado que tiene los efectos de relajación del músculo liso uterino, antiespasmódico, liberación de dolor y antiinflamatorio, una mejor explicación para su indicación de dismenorrea e inflamaciones pélvicas crónicas.

La composición de Cinnamomi y Poria con diferentes concentraciones puede causar un efecto inhibitor frente a la contracción del útero extracorporeo de las ratas. Contrarresta la aceleración y mejora las contracciones del útero extracorporeo que se indujeron mediante oxitocina. La solución de la composición de Cinnamomi y Poria de diferentes concentraciones puede dar como resultado la disminución de la tasa de aglutinación plaquetaria en sangre en las ratas. La eficacia tiene una relajación positiva con diferentes concentraciones. La composición de Cinnamomi y Poria también puede inducir una caída de la viscosidad sanguínea en ratas administradas con ésta durante pocos días.

10 A la reacción al dolor causada por un producto químico o calor, las ratas retorcerán sus cuerpos o retorcerán sus colas. Registrando los tiempos de retorcimiento del cuerpo o la cola, puede evaluarse un índice objetivo de su sensibilidad al dolor. La CCP, si se proporciona a los animales unos pocos días antes de los ensayos, dentro de cierto alcance, les aliviara del movimiento corporal.

15 Para el efecto antiinflamatorio, debe observarse que con la administración de CCP, el peso de las orejas inflamadas de los ratones obviamente se reducirá. El peso de las orejas inflamadas de los ratones refleja la gravedad de la inflamación en la oreja que se embadurna con aceite de crotón en su superficie un periodo de tiempo antes.

Un estudio general de la farmacología sobre el sistema cardiovascular, respiratorio y nervioso de las ratas mostró que el CCP no tenía efectos inversos notables fisiológicamente en los sistemas anteriores. El ensayo de toxicidad aguda se realizó en 20 ratones con 246 g/kg de dosificación (unas cien veces la dosificación clínica de los seres humanos), administrada por inyección gástrica. No se encontró muerte o ninguna otra actividad anormal. El estudio de toxicidad a largo plazo de 90 días también fue negativo en los índices de salud general, los parámetros sanguíneos generales, las funciones y los estudios patológicos de diferentes órganos.

25 Los estudios clínicos controlados de evaluaciones exhaustivas y de múltiples enfermedades se realizaron entre mujeres de China. 150 personas estuvieron involucradas en la fase inicial del ensayo (fase 2). No se indicaron muertes o acontecimientos adversos graves. Los estudios clínicos mostraron resultados positivos en un análisis evaluado exhaustivo: La evaluación de múltiples indicaciones: Dismenorrea, inflamaciones pélvicas crónicas y muchos otras.

DESCRIPCIÓN DETALLADAS DE LAS FIGURAS

Figura 1. Cromatografía de gases de la materia volátil de CCP

35 Preparación de la materia volátil: Se añaden 50 ml de agua y 30 ml éter etílico al contenido de 10 cápsulas de Cinnamomi y Poria. Se extrae la solución con calentamiento a reflujo en un baño de agua de 75 °C durante 90 minutos y se deja enfriar. Se extrae la fase acuosa de la solución con 20 ml de éter etílico tres veces y se combinan todas las soluciones de éter etílico juntas. Se volatilizan para secar la solución de éter etílico en un baño de agua de 40 35 °C y, finalmente, se añade éter etílico para prepararla en 5 ml de volumen.

Requisitos del sistema: columnas capilares de fenil metil siloxano al 5% HP-5 (30,0 m x 0,32 mm z 0,25 µm); temperatura de las columnas: de 80 °C (5 min) a 250 °C (10 min) crecimiento a 3 °C/min; el gas vehículo es nitrógeno con un caudal de 1,5 ml/min; detector FDI con 40 ml/min de hidrógeno, 350 ml/min de aire; gas de 45 composición: 30 ml/min de nitrógeno; temperatura del sistema de entrada 250 °C; inyección de división con 50:1 de proporción de separación y 2 µl de volumen; temperatura del detector 280 °C; tiempo de registro 72 minutos.

Figura 2. HPLC de materia soluble en agua de CCP

50 Preparación de la materia soluble en agua: Se añaden 200 ml de agua al contenido de 3 cápsulas. Se extrae la solución con calentamiento a reflujo durante 30 minutos (después de la ebullición) y se deja enfriar. Se centrifuga la solución durante 10 minutos y se filtra el sobrenadante con una membrana de filtro de 0,45 µm para obtener el filtrado.

55 Requisitos del Sistema: Columna de espectro: Alltima C₁₈ 5 µm, 7,5 mm x 4,6 mm (precolumna) y 250 nm x 4,6 mm (columna de espectro); temperatura de la columna: 30 °C; Caudal: 1 ml/min, longitud de onda de detección 230 nm; volumen de inyección 5 µl; tiempo de registro: 70 minutos.

Figura 3. HPLC de la materia liposoluble de CCP en 210 nm de longitud de onda de detección

60 Preparación de la materia liposoluble: Se usa el depósito de precipitación que se obtiene después del procedimiento de centrifugación en la preparación de la solución soluble en agua. Se lava abundantemente el depósito con agua hasta que se vuelve incoloro. Se añaden 20 ml de metanol al depósito, se extrae la solución con calentamiento a reflujo durante 30 minutos (después de la ebullición) y se deja enfriar. Se centrifuga la solución durante 10 minutos. 65 Se volatiliza para secar el metanol de la solución en un baño de agua de 75 °C. Y, finalmente, se añade cierta

cantidad de metanol para hacer que la solución tenga un volumen de 2 ml, se filtra con una membrana de filtro de 0,45 µm y se obtiene el filtrado.

- Requisitos del Sistema: Columna de espectro: Alltima C₁₈ 5 µm, 7,5 mm x 4,6 mm (precolumna) y 250 nm x 4,6 mm (columna de espectro); temperatura de la columna 50 °C; caudal: 1 ml/min, longitud de onda de detección: 210 nm y 242 nm; volumen de inyección: 5 µl; tiempo de registro: 76 minutos.

Figura 4. HPLC de materia liposoluble de CCP en 242 nm de longitud de onda de detección

- 10 Preparación de la solución de muestra de materia liposoluble: La misma que el procedimiento de la figura 3.

Requisitos del Sistema: Los mismos que con el procedimiento de la figura 3.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

- 15 Esta invención proporciona una composición extraída del tallo de *Cinnamomum cassia*, el esclerocio de *Poria cocos*, la corteza de la raíz de *Paeonia suffruticosa*, raíz de *Paeonia lactiflora*, y semilla de *Prunus pérsica* o *Prunus davidiana*, en la que la composición comprende paeoniflorina al 1,3-1,9% y paeonol al 0,7-1,1% y puede obtenerse mediante un procedimiento que comprende las etapas de a) a r) de acuerdo con la reivindicación 1.

- 20 Esta invención proporciona una composición que, cuando la materia volátil de la composición se somete a cromatografía de gases (CG) se produce la huella del pico 7 mostrada en la figura 1 y en forma de tabla en la Tabla 2. En esta huella las relaciones del tiempo de retención (TR) del pico 7 en comparación con el cinnamaldehído son 0,757, 1,275, 1,290, 1,449, 1,704, 2,146 y 3,061, respectivamente; las relaciones del área del pico 1 y el pico 3-7 en comparación con el cinnamaldehído son 1,183, 0,696, 5,565, 0,093, 0,164, 0,115, respectivamente; y el intervalo de las relaciones de tiempo de retención de los 7 picos en comparación con el cinnamaldehído son 0,77-0,745, 1,280-1,270, 1,295-1,285, 1,455-1,440, 1,710-1,700, 2,150-2,160 y 3,070-3,55 respectivamente; y el intervalo de las relaciones del área del pico 1 y picos 3-7 en comparación con el cinnamaldehído son 1,740-0,690, 1,110-0,350, 8,080-3,460, 0,140-0,060, 0,255-0,080 y 0,160-0,070 respectivamente.

- 30 Esta invención proporciona una composición que cuando la materia soluble en agua de la composición se somete a cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) se produce la huella del pico 13 mostrada en la figura 2 y con forma de tabla en la Tabla se produce. En esta huella las relaciones del tiempo de retención (TR) de los 13 picos en comparación con paeoniflorina son 0,261, 0,349, 0,584, 0,915, 1,076, 1,118, 1,162, 1,196, 1,268, 1,312, 1,420, 2,107 y 2,389 respectivamente; las relaciones del área de los 13 picos en comparación con la paeoniflorina son 0,645, 0,103, 0,128, 0,212, 0,089, 0,046, 0,052, 0,083, 0,076, 0,211, 0,404, 0,149 y 0,981 respectivamente; y el intervalo de las relaciones del tiempo de retención de los 13 picos en comparación con la paeoniflorina son 0,275-0,250, 0,360-0,340, 0,600-0,560, 0,920-0,910, 1,085-1,070, 1,125-1,110, 1,175-1,155, 1,210-1,180, 1,285-1,250, 1,330-1,295, 1,450-1,400, 2,170-2,060 y 2,465-2,340 respectivamente; y el intervalo de las relaciones del área de los 13 picos en comparación con la paeoniflorina son 0,750-0,460, 0,160-0,070, 0,230-0,065, 0,250-0,170, 0,130-0,065, 0,060-0,035, 0,080-0,030, 0,105-0,055, 0,090-0,065, 0,255-0,140, 0,470-0,310, 0,195-0,130 y 1,475-0,680 respectivamente.

- 45 Esta invención proporciona una composición en la que cuando la materia liposoluble de la composición se somete a Cromatografía Líquida de Alto Rendimiento (HPLC) de 210 nm de longitud de onda de detección se produce la huella del pico 7 mostrada en la figura 3 y se muestra en forma de tabla en la Tabla 4. En esta huella las relaciones del tiempo de retención (TR) de los 7 picos en comparación con ácido paquímico son 0,367, 0,408, 0,897, 0,980, 1,019, 1,143 y 1,305 respectivamente; las relaciones del área de los 7 picos en comparación con ácido paquímico son 0,322, 0,580, 0,280, 0,752, 0,286, 4,650 y 0,959 respectivamente; y el intervalo de las relaciones del tiempo de retención de los 7 picos en comparación con ácido paquímico son 0,375-0,355, 0,420-0,395, 0,905-0,890, 0,985-0,975, 1,025-1,015, 1,150-1,135 y 1,315-1,295 respectivamente; y el intervalo de las relaciones del área de los 7 picos en comparación con ácido paquímico son 0,540-0,180, 0,900-0,410, 0,350-0,220, 0,940-0,600, 0,410-0,210, 5,950-2,900 y 1,450-0,575 respectivamente.

- 55 Esta invención proporciona una composición en la que cuando la materia liposoluble de la composición sometida a Cromatografía Líquida de Alto Rendimiento (HPLC) de 242 nm de longitud de onda de detección se produce la huella del pico 8 mostrada en la figura 4 y con forma de tabla en la Tabla 5. En esta huella las relaciones del tiempo de retención (TR) de los 8 picos en comparación en el ácido poliporénico C son 0,520, 0,566, 0,686, 1,128, 1,557, 1,763, 2,133 y 3,033 respectivamente; las relaciones del área de los 8 picos en comparación con el ácido poliporénico C son 0,155, 0,184, 1,385, 0,481, 0,181, 1,414, 0,630 y 0,463 respectivamente; y el intervalo de las relaciones del tiempo de retención de los 8 picos en comparación con el ácido poliporénico C son 0,530-0,510, 0,570-0,560, 0,690-0,680, 1,135-1,125, 1,585-1,525, 1,800-1,720, 2,190-2,070 y 3,105-2,950 respectivamente; y el intervalo de las relaciones del área de los 8 picos en comparación con el ácido poliporénico C son 0,185-0,120, 0,230-0,140, 1,950-0,900, 0,530-0,430, 0,240-0,150, 1,700-1,250, 0,840-0,480, 0,680-0,160 respectivamente.

- 65 Esta invención proporciona las composiciones anteriores que tienen componentes extraídos de *Ramulus Cinnamomi*, *Poria*, *Cortex Moutan*, *Radix Paeoniae Alba* y *Semen Persicae*.

Esta invención proporciona las composiciones anteriores que tienen los componentes extraídos de Ramulus Cinnamomi, Poria, Cortex Moutan, Radix Paeoniae Alba y Semen Persicae, que se obtienen a partir de plantas cultivadas.

5

Cápsula de Cinnamomi y Poria (CCP)

El producto se produce en forma de cápsula. Su interior es un gránulo de color marrón amarillento, que es aromático y ligeramente amargo. Cada cápsula contiene 0,31 g del granulo, que puede almacenarse durante 18 meses a temperatura ambiente.

10

La CCP se usa para dismenorrea primaria o secundaria, hemorragia uterina disfuncional causada por descamación irregular del endometrio, inflamaciones pélvicas crónicas con masas inflamatorias en el abdomen inferior o histeromiomas intramurales pequeños, y muchos trastornos pélvicos comunes.

15

La CCP es para administración oral, 3 cápsulas cada vez, 3 veces al día, preferiblemente después de las comidas. Se aconseja a los usuarios que no usen este producto durante el periodo de la menstruación. El periodo de la duración del tratamiento es de tres meses o siguiendo las directrices de un especialista.

20 La CCP era fuente de Bolo de Cinnamomi y Poria. Los inventores comenzaron a desarrollarlo en 1989, y se les concedió el Certificado de Nueva Medicina y el Certificado de producción por las autoridades de China. (1995, Health Dept approval N° Z-25; Health Dept Medical Standard 1998; WS2-097[X-017]-98[Z])

Fórmula de las materias primas medicinales

25

Ramulus Cinnamomi	144 kg
Poria Cortex	144 kg
Moutan Radicis	144 kg
Radix Paeonize Alba	144 kg
Semen Persicae	144 kg

(Para 600.000 cápsulas)

Procedimiento detallado

Se lavan Ramulus Cinnamomi, Moutan Radicis, Radix Paeonize Alba y Semen Persicae con agua a alta presión después de recoger las impurezas. Se esterilizan por fumigación las cuatro materias medicinales con Epoxietano. Se aplastan Ramulus Cinnamomi, Semen Persicae y Moutan Radicis en polvos rugosos y Radix Paeonize Alba se pica en rodajas de 2-3 mm.

30

La Poria Cortex se esteriliza por microondas. Se granula al 50% el Poria Cortex del peso de la fórmula en polvo fino (70-72 kg para la fórmula de materia prima total de 720 kg). Se filtra el polvo con tamices de 100 mallas.

35

Se echa en remojo una cantidad total de Cortex Moutan (144 kg) en agua durante cuatro horas antes de destilarlo en agua y recoger su destilado. Después de la refrigeración del destilado, se filtra y se seca al vacío, por debajo de 55 °C. Se obtienen 1,6-1,8 kg de Paeonol en bruto a partir del destilado. La concentración del paeonol en bruto no debe ser de menos del 80%. El residuo y el fluido del procedimiento anterior se reservan para su uso en el futuro; se pesan 10,2 kg de β-ciclodextrina para preparar su solución acuosa saturada a 80 °C. Se disuelve una cantidad completa del paeonol en bruto que se ha mencionado anteriormente en 9,0 kg de alcohol al 95%. Se añade lentamente la solución alcohólica en la solución acuosa de β-ciclodextrina mientras se mantiene en agitación la mezcla a una temperatura de 80 °C. Se mantiene la agitación de la mezcla a 80 °C durante 3 más y se almacena durante 24 horas en un refrigerador antes del escape de la filtración. Después, el residuo se lava en pequeñas cantidades de alcohol anhidro y se deja secar a temperatura ambiente. Se obtienen aproximadamente 9,86 kg de clatrato de polvo de color blanco a partir de esta etapa.

45

Se echa en remojo una cantidad completa de Cortex Moutan (144 kg) en agua durante seis horas. Se destila Ramulus Cinnamomi en agua durante cuatro horas y se recoge su materia volátil (la presencia de cinnamaldehído que se ensaya en este documento en la material volátil). Se obtienen 0,82-0,93 litros de aceite volátil a partir de esta etapa. El residuo y el fluido se reservan para su uso en el futuro; se pesan 3,72 kg de β-ciclodextrina para preparar su solución acuosa saturada a 45 °C. Se disuelve una cantidad completa del aceite volátil del cinnamomi que se ha mencionado anteriormente en 5,0 kg de alcohol al 95%. Se añade lentamente la solución alcohólica a la solución de β-ciclodextrina mientras se mantiene una solución mixta a temperatura termostática de 45 °C. Se mantiene la agitación a 45 °C termostáticos durante 3 horas más y se almacena 24 horas en un refrigerador antes de que se escape el filtrado. Después, se lava el residuo con una cantidad pequeña de éter de petróleo y se deja secar a la temperatura ambiente. Se obtienen aproximadamente 3,70 kg de clatrato de polvo blanco.

55

El residuo de Cortex Moutan y Ramulus Cinnamomi de las etapas que se han mencionado anteriormente se mezclan

con una cantidad completa de Radix Paeonize Alba (144 kg), Semen Persicae (144 kg), el 50% restante de Poria Cortex (72 kg) y el peso tres veces de alcohol al 90%. Se extrae la mezcla dos veces durante dos horas cada una, se filtra el extracto y se reserva el extracto de alcohol después de la recuperación de este. Se añade el peso cuatro veces de agua a su residuo, se destila dos veces durante dos horas cada vez y se filtra el extracto de agua. El extracto de agua, extracto de alcohol, el fluido de Cortex Moutan y fluido de Ramulus Cinnamomi de las etapas que se han mencionado anteriormente se unen y se enriquecen al vacío a una temperatura por debajo de 55 °C. Se obtienen aproximadamente 110-130 kg de un extracto cremoso con una densidad relativa de no menos de 1,27 (75-80 °C).

10 El extracto cremoso se mezcla vigorosamente con el polvo de Poria Cortex granulado y se muele en polvo fino después de un procedimiento de secado al vacío por debajo de 55 °C. Se obtienen aproximadamente 164 kg de un polvo.

15 Se mezclan vigorosamente 8,2 kg de goma de almidón con el polvo fino. Se granula el polvo mixto a 30 mallas con algo de alcohol al 60%. Después del procedimiento de secado al vacío a una temperatura por debajo de 55 °C y el procedimiento de rectificación se obtienen un total de 171-172 kg de granulo.

20 Se mezcla vigorosamente el clatrato de β-ciclodextrina de Paeonol, el clatrato de β-ciclodextrina del aceite volátil de Cinnamomi y 0,33 kg de dióxido de silicio en una mezcladora de alto rendimiento. Se obtienen 13,8 kg de mezcla.

Se mezclan vigorosamente los 13,8 kg de mezcla con el granulo que se ha mencionado anteriormente, y se rectifica el granulo. Se producen 186 kg de granulo intermedio. El balance de la masa de todos los materiales que se han procesado anteriormente debe ser del ±5%.

25 Requisitos técnicos

- (1) El polvo fino de Poria necesita explorarse mediante 100 mallas de exploración (diámetro interno $150 \pm 6,6 \mu\text{m}$).
- (2) La concentración del paeonol en bruto no debe ser menos del 80%;
- (3) La concentración y el secado deben realizarse en condiciones de vacío. La temperatura no puede estar por encima de 55 °C.
- (4) La material volátil se ensaya para comprobar la presencia de cinnamaldehído.
- (5) El equilibrio de masas de material debe ser ±5%.

Materiales medicinales y su procesamiento

35 Ramulus Cinnamomi (Nombre común: Casia)

La Cassia es el tallo joven seco del árbol Cinnamomum cassia (Fam. Lauraceae). La planta se recoge en primavera o verano. Se seca al sol después de su recogida, se eliminan sus hojas y quizás se corta en rodajas.

40 La preparación medicinal tiene un cuerpo cilíndrico, multiramificado, 30-75 cm de longitud, su extremo grueso es de 0,3-1 cm de diámetro. Tiene una superficie de color marrón o rojizo-marrón, con líneas longitudinales, finas arrugas, puntos con hojas, cicatrices de brotes, lenticelas punteadas o elípticas punteadas. Dura y frágil, se rompe fácilmente. Para las rodajas, estas son de 2-4 mm de espesor, se corta la superficie que muestra el color rojizo-marrón en la corteza, amarillento-blanco a amarillento-marrón en las partes de madera, médula subcuadrada. Características de olor aromático; sabor, dulce y ligeramente acre, especialmente en la corteza. La preparación medicinal son los restos limpios de Cinnamomi sin impurezas visibles. Los ingredientes importantes de Cinnamomi son cinnamaldehído y ácido cinámico.

50 Proveedor: Tianma Medicinal Material Company de Bozhou, Anhui P.R.C. Attn: ZHOU, Fang Móvil: 011-86-1360-5682-623

Poria Cortex (Nombre común: Pan indio)

55 Poria es el esclerocio seco de los hongos, Poria cocos (Schw.) Wolf (Fam. Polyporaceae). La planta se recoge de julio a septiembre. Después de la recolección, se amontona y se esparcen repetidamente hasta que aparecen arrugas sobre la superficie y su humedad interna se evapora. El esclerocio seco completo se conoce como "Fulingge". El esclerocio fresco se pela después se secarlo. Las partes separadas se denominan "Fulingpi" (piel) y "Fulingkuai" (pulpa).

60 El Fulingge tiene forma subglobosa, elipsoide, achatada o irregular, y un tamaño variable. La piel externa es fina y rugosa, de marrón a marrón negruzco, visiblemente arrugado y estriado. La textura es dura y compacta, fractura granular, algunas grietas, la capa externa es de color marrón pálido, la parte interna blanca, rara vez rojiza, algunas muestran las raíces que penetran de los pinos en el centros. Inodoro; sabor, blando y pegajoso cuando se mastica.

65 La preparación medicinal son los restos limpios de Poria sin impurezas visibles. Es importante que los ingredientes activos sean Pachman y ácido paquímico.

Proveedor: Shuanggou Medicine Company de Bozhou, Anhui P.R.C.
Attn: HUANG, Jigang Teléfono: 011-86-558-5116-893, Móvil: 011-86-1380-5689-093.

5 Cortex Moutan (Nombre común: Corteza del árbol de peonía)

La corteza del árbol de la peonía es la corteza de la raíz seca de *Paeonia suffruticosa* Andr. (Fam. Ranunculaceae). La raíz se recoge en otoño, se eliminan las radículas, la corteza de la raíz se pela y se seca al sol.

- 10 Tubular o semitubulada, fisurada longitudinalmente, alguno intrincada o abierta, 5-20 cm de largo, 5-12 mm de diámetro, 1-4 mm de espesor. La superficie exterior es de color grisácea-marrón o amarillenta-marrón, que muestra numerosas lenticelas transversales y cicatrices de raicillas, la capa expuesta, en la que se cayó el corcho aparece de color rosa; la superficie interna grisácea-amarillenta o parduzca, con finas estriaciones longitudinales obvias, normalmente mostrando cristales brillantes. Textura y olor frágil, fácil de romper, fractura relativamente uniforme
- 15 tieso, rosa pálido. Olor, aromático; sabor, ligeramente más amargo y astringente. La preparación medicinal debe ser la Moutan Radicis limpia sin impurezas visibles. Los ingredientes importantes: Paeonol.

Proveedor: Nature Medicinal Herbs Company de Bozhou, Anhui P.R.C. Attn: ZHOU, Wenxin Teléfono: 011-86-562-6811-050.

20 Radix Paeoniae Alba (Nombre común: Raíz de peonía blanca)

- La raíz de peonía blanca es la raíz deseada de *Paeonia lactiflora* Pall. (Fam. Ranunculaceae). El fármaco se recoge en verano y otoño, se lava en agua, se elimina la raíz que sobre y la parte inferior y las raicillas, se hierve en agua,
- 25 se pela y se seca al sol.

- Tiene dos extremos truncados, cilíndricos, rectos o ligeramente curvados, de 5-18 cm de largo, 1-2,5 cm de diámetro. Externamente es de color blancuzco o marrón rojizo pálido, brillante o con arrugas longitudinales, cicatrices de raicillas y a veces permanece de corcho marrón. Tiene una textura compacta, fácil de romper, fractura
- 30 relativamente uniforme, de color blancuzco o marrón rojizo pálido, anillo de cámbium distintos y rayos radiales. Olor, ligero; sabor, ligeramente amargo y agrio. Radix Paeonize Alba usada en medicinas debe ser los restos limpios de Radix Paeonize sin impurezas visibles. Su ingrediente activo más importante es paeoniflorina.

Proveedor: National Medicinal Herb Company de Bozhou, Anhui P.R.C. Attn: ZHOU, Hai Móvil: 011-86-1370-5680-735.

Semen Persicae (Nombre común: Semilla de Melocotón)

- La semilla de melocotón es la semilla madura seca de *Prunus pérsica* (L.) Batsch o *Prunus davidiana* (Carr.) Franch. (Fam. Rosaceae). El fruto se recoge cuando está maduro. La semilla se retira del sarcocarpio y la cáscara (endocarpio), y se seca al sol.
- 40

- La semilla de *Prunus Pérsica* Prolate-ovate, tiene 1,2-1,8 cm de largo, 0,8-1,2 cm de ancho, 0,2-0,4 cm de espesor. Externamente, es de color amarillento-marrón a marrón rojizo, con numerosas proyecciones granulares. Un extremo
- 45 agudo, ampliado en el medio, el otro extremo obtuso-redondeado y ligeramente oblicuo con el borde relativamente fino. Un hilo corto lineal que se da por el extremo agudo y un chalaza relativamente distinto y ligeramente oscuro en el extremo redondo, con muchos haces vasculares longitudinales irradiados por el chalaza. Testa delgada, 2 cotiledones, casi blancos y aceitosos. Olor débil; sabor, ligeramente amargo. Las preparaciones medicinales deben ser de Semen Persicae puro en forma de polvo, limpio y sin impurezas. Su ingrediente activo más importante es
- 50 amigdalina.

Proveedor: Xingsheng Medicinal Herbs Company de Bozhou, Anhui P.R.C. Attn: Li, Yulong Teléfono: 011-86-558-5525-258 Móvil: 011-86-1395-6716-718.

55 **Control de calidad de los semi-productos**

Extracto cremoso: El extracto cremoso es de color marrón oscuro. Su densidad relativa no debe ser menos de 1,27 (a 75~80 °C), el contenido de paeoniflorina debe ser del 1,8-2,7%.

- 60 Polvo suave después de la mezcla de Poria cortex: de color marrón amarillento con un sabor ligeramente amargo. El límite de microbios: el número de bacterias no puede exceder de 5000 entradas/g; los hongos no pueden exceder de 300 entradas/g; no deben detectarse acídidos vivos, huevos de acídidos o coliformes. Contenido de paeoniflorina: 1,4~2,2%.

- 65 Gránulos finales: De color marrón amarillento con un contenido de agua de no más del 4,0%.

Cápsulas: Limpias, no pegajosas ni de forma mutilada. Diferencia de contenido: no más del 8,0% (0,31 g/cápsula). El tiempo de disolución es de 25 minutos. Contenido en agua no más del 4,0%. Contenido de paeoniflorina al 1,3-1,9% y paeonol 0,7-1,1%.

5 Tasa de rendimiento de semiproductos

Polvo de Poria	92~98%
Polvo de material blando	94~98%
Extracto	15~18%
Gránulo	96~98%

La preparación del compuesto de la medicina tradicional China da como resultado procedimientos físicos y químicos sofisticados que implican toneladas de compuestos complejos. Durante el proceso de extracción, siempre se obtendrán nuevos ingredientes. En base a las propiedades de diferentes materiales medicinales en la TCM y procedimientos de CCP, se resumen características generales de diversos ingredientes en las CCP y se hace un gráfico con ellos en la tabla que se indica a continuación.

<u>Componentes</u>	<u>Contenido (%)</u>
β-Paquiman	32-36
Amigdalina	1,3
Amilo	30-34
Amino ácido	0,5
Ácido Salicílico	0,1
Dextrina	10-12
SiO ₂	0,5
H ₂ O	4
Colofonia, proteína de la cáscara y grasa	4-6
Tannina, β-citelina Flema y glucosa	10-14
Paeoniflorina*	1,3-1,9
Paeonol*	0,7-1,1
*Componente activo primario	

15 Componentes subsidiarios

Dióxido de silicio

Otros nombres: Dióxido de silicio; Carbono blanco; Gel de sílice; Sílice precipitada; Dióxido de silicio coloidal.

20 Formula molecular y peso: SiO₂-nH₂O; 60,80 (anhidro)

Procedimiento preparativo: El silicato sódico reacciona con ácido clorhídrico, ácido nítrico o vitriol para obtener gel de sílice que es acuífero después de su depósito, lavado y secado. En el aire que se mezcla uniformemente con gas hidrógeno, el cloruro de silicio se hidroliza en agua después de quemarse a temperatura elevada, y se forma un aerosol sólido. Después, se usa un separador de circulación para crear gel de sílice anhidro.

30 Propiedades: Debido a las diferencias en los procedimientos de preparación, las características físicas y químicas del producto varían. Tiene forma de polvo de color blanco y es insípido. Con su característica higroscópica no se disuelve en agua, disolvente orgánico o ácido (excepto ácido fluorhídrico). Se resuelve en hidróxido sódico caliente.

Uso: El producto viene en forma de comprimidos y cápsulas. Se usa como un diluyente, un suplemento, un agente antiadherente en la preparación de comprimidos o cápsulas; suspensoide en pomadas y supositorios; estabilizador de emulsión; absorbente de componentes líquidos en la preparación sólida. El gel de sílice precipitable también puede usarse como un agente de aclarante. El dióxido de silicio coloide puede usarse como vehículo de un dispersoide sólido adsorbente de sustancia orgánica con hidroxilo.

40 Condiciones de estabilidad y condiciones de almacenamiento: Este producto es higroscópico, por lo tanto, debe almacenarse en un recipiente y ponerse en un entorno seco.

Dextrina

45 Formula molecular y peso: (C₆H₁₀O₅)_n-xH₂O (162,14). El peso molecular se representa por n; el valor medio es 4500.

Propiedades: Este producto es de color blanco y está en forma de polvo o de gránulos con una fragancia especial y un sabor dulce. Su densidad en volumen es 0,80; su densidad real es 0,918; su punto de fusión es 178 (disuelto); su

contenido en agua es del 5%; el área superficial específica es de 0,14 m²/g (quantasorb). Se disuelve fácilmente en agua caliente, y se transforma en una solución coloidal transparente. También puede disolverse en agua fría, solución de etanol o solución de propanol.

5 Uso: Este producto puede usarse como un adsorbente, un diluyente o un agente de unión.

Propiedades de algunos ingredientes importantes

Paeonol

10 Nombre químico: Etanona, 1-(2-hidroxi-4-metoxifenil)-

Fórmula molecular: C₉H₁₀O₃; peso molecular: 166,17

Fuente: Corteza de Paeonia moutan Sim, familia Ranunculaceae, hierba de Pycnostelma paniculatum (Bunge) K. Schum, familia de Asclepiadaceae, corteza de Btula platyphylla Suk. Var japónica (Sieb.) Hara, hierba de Primula auricula L, raíz de Rithysa meridionalis L.B.Smith & Downs.

15 Propiedades físicas: cristal de acerato incoloro (etanol), el punto de fusión es 50 °C, se resuelve un poco en agua, puede volatilizarse junto con vapor, resolverse con etanol, éter, acetona, cloroformo, benceno y disulfuro de carbono.

20

$Uv\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH}$ nm (log ε): 291(4,61), 274(4,17), 316(3,84)

$Ir\nu_{m\acute{a}x}^{KBr}$ cm⁻¹: 2940 y 1639 (fuerte). RMN (CDCl₃): 2,55 (3H, S), 3,8 (3H, S), 6,3~6,6 (2H, m), 7,6(1 H, d, J = 9), 10,6 (1 H, s). EM m/e (%): 166 (M+, 42), 151(100), 108(8), 95(7), 43(8).

25 (TLC 1: gel de sílice G; Desarrollador: ciclohexano-etil éster acetato (3:1); coloración: solución de etanol cloruro férrico al 3%; Fr: 0,85; TLC 2: gel de sílice G; Desarrollador: ciclohexano-cloroformo-etanol absoluto (7:3:1); Coloración: solución de etanol cloruro férrico al 3%; Fr: 0,60).

Resultados de los estudios actuales sobre actividades fisiológicas:

30

1) Sobre el sistema nervioso central: Se inyecta en un ratón o se toma por vía oral y tiene función abirritativa, antálgica e hipnótica. Puede reducir la temperatura y defervescer a un ratón normal y calorificante, además debe soportar convulsiones inducidas por electricidad y medicinas. 2) función antibacteriana y antiflogística: El control de la consistencia de golden staphylococcus y streptococcus faecalis es 500 µg/ml; el control de la consistencia de coniforme y bacillus subtilis es 200 µg/ml, el control de la consistencia del germen de tiña entre los pies es de 250 µg/ml. Si se toma por vía oral, puede soportar la inflamación que se indujo por carragenina, glucosan y ácido acético.

35

3) Reducción de la tensión arterial: Se anestesian perros por inyección en vena de 80~120 mg/kg, se reduce la presión al 41~61 %, puede llevar 10~12 min. Muestra la función obvia de reducir la presión para la mayor parte de los perros y ratones tratados con la tensión arterial alta. 4). Toxicidad: Escasa toxicidad, DL₅₀ de ratón (mg/kg), inyección en vena 196, inyección celiaca 741, tomado por vía oral 3430 y 4900. 5) Uso clínico: Se inyectan 50~100 mg en el músculo o determinados puntos cada vez. Muestra buen efecto curativo para tratar reumatismo, dolor de estómago, otros dolores, eczema y dermatitis por irritabilidad, etc., y la tasa de validez es del 83%. Su tasa de validez es del 92% para 261 casos con artritis reumatoide, lumbago, dolor de estómago, dolor de tripa, dolor de postoperatorio y por cáncer.

45

Paeoniflorina

Nombre químico: β-D-Glucopiranosido, 5b-[(benciloxi)] tetrahidro-5-didroxi-2-metil-1,5-metano-1H-3,4-dioxaciclo[cd]pentalen-1a(2H)-il[1aR-(1αα, 2β, 3αα, 5α, 5αα, 5bα)]-

50

Fórmula Molecular: C₂₃H₂₈O₁₁; Peso molecular: 480,45

Fuente: Raíz de Paeonia albiflora Pall. (P. Lactiflora Pall.), raíz de P. Suffruticosa Andr. (P. moutan Sims), raíz de P. Delavayi Franch.

55

Propiedades físicas: higroscópico, polvo sin forma, $[\alpha]_D^{16}$ -12,8° (C = 4,6, metanol), cristal incoloro y de acerato, el punto de fusión es a 196 °C.

$UV\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH}$ nm (ε): 230 (9560). $IR\nu_{m\acute{a}x}^{nujol}$ cm⁻¹: 3400 (a.), 1708, 1604, 1585, 1270.

60

Resultados de los estudios actuales en las actividades fisiológicas:

- 1) Función en vena coronaria: arteria coronaria dilatada, el efecto aumentará el flujo de la arteria coronaria, soporta la falta aguda de sangre del músculo cardiaco, coacervación de control de las plaquetas sanguíneas, se reduce la presión arterial, etc., se ha ensayado para el tratamiento en enfermedad cardiaca coronaria. 2) Aliviar y calmar en dolor: se obvio el efecto antálgico en un ratón celiaco inyectado, puede prolongar el tiempo de sueño inducido del ratón, y puede antagonizar las convulsiones inducidas. 3) Función antiinflamatoria y anticancerosa: puede controlar la hinchazón de la pata inducida por intradx, puede evitar la ulcera por irritabilidad, y limitar la exudación de jugos gástricos. 4) Función antifebril: puede reducir el calor del animal normal del ratón, puede disipar el calor del animal del ratón creando fiebre de forma artificial. 5) Función antiespasmódica: puede limitar el movimiento de los intestinos exosomáticos y el estómago endosomático de ratas grandes y cobayas, y el músculo liso uterino de ratones. Puede antagonizar la construcción uterina de los ratones inducida por alfa-hipofamina. 6) Toxicidad: Baja toxicidad, DL₅₀ (mg/kg) de los ratones: 3530 (inyección en vena), 9530 (inyección celiaca).

Ácido cinnámico

- 15 Nombre químico: ácido 2-propenoico, 3-fenil-

Fórmula y peso molecular: C₉H₈O₂; 148,16

- Fuente botánica: Corteza de Cinnamomum cassia Presl, familia Lauraceae, velamen de Lycium Chinese Mill, hojas de Foeniculum vulgare Mill, family Umbelliferae, colofonia de Myroxylon pereir(Royle) Klotzscli, familia Leguminosae.

Propiedades físicas: (conversión) punto de fusión 132~134 °C, UVλ^{EtOH}_{máx} nm: 268, EM m/e 148 (M⁺, repique basal).

Punto de fusión: 135~136 °C, Punto de ebullición 300 °C; UVλ^{EtOH}_{máx} nm (ε) : 273 (20893), 222 (14125), 216(17783);

- Irv^{KBr}_{máx} cm⁻¹: 2520, 1690, 1680, 1640, 1590, 1500, 1460, 1430, 1350, 1320, 1290, 1240, 1210, 1180, 1070, 980, 940, 870, 770, 710, 590, 540, 480, EM m/e(%): 147(100), 748(94), 103(63), 77(50), 51 (50), 102(44), 131 (31), 91 (25)^[2].

Resultados de los estudios actuales en las actividades fisiológicas

- Función antibacteriana y antifúngica, uso como antiséptico. Se va a usar para tratar clínicamente la tuberculosis, puede aumentar los leucocitos. En los últimos años, las pruebas con animales han demostrado que la función puede aumentar los leucocitos. Se inyectan 1,5 mg/kg de cinnamato sódico por vía hipodérmica a cada conejo, y se mantiene durante 3 días, se elevan los leucocitos al 200-250%; se mantiene durante 10 días, no tiene influencia en el peso y la temperatura del animal. Tiene función colagoga en perros; tiene función ligeramente relajante.

35 Amigdalina

Otros nombres: Mandelonitrilo-β-gentiobiosida, Amigdalosida, laetrilo, VB-17.

- Nombres químicos: Bencenoacetnitrilo, α-[(6-O-β-D-glucopiranosil-β-D-glucopiranosil) oxil]-, (R)-Fórmula y peso molecular: C₂₀H₂₇NO₁₁; 457,42.

- Fuente: la semilla de Prunus pérsica (.)Batsch, semilla de P. amygdalus Batsch. Semilla de P. armeniaca L. Semilla de P. salicina Lindl. Hueso de P. mume(Sieb.) Sieb.etZucc. corteza de taegus oxyacantha Linn y Sorbustianschanica Rupr. Semilla de Eriobotrya japonica(Thunb.) Lindl, fruto de Cydonia oblonga Mill.

- Propiedades físicas: El trihidrato es cristal rómbico (agua), punto de fusión a 200 °C, punto de fusión del producto anhidro de aproximadamente 220 °C, [α]¹⁶_D -42 °C. Se resuelve 1 g en 12 ml de agua, 900 ml de etanol y 11 ml etanol en ebullición. Es fácil resolverlo en agua en ebullición y difícil disolverlo en éter. UVλ^{Meon}_{máx} nm (ε): 268(179), 262(255), 257(256), 251(198), 208 (7210), IR_v_{máx} cm⁻¹, 3330, 2860, 1640, 1590, 1490; 1450, 1270, 1160, 1060, 690^[1]

- Resultados de estudios actuales en actividades fisiológicas:

- Se ha usado para el tratamiento contra el cáncer desde 1845. En los últimos años, se ha informado en el extranjero. Existen diferentes enfoques sobre su función y mecanismo. Algunos piensan que tiene función anticancerosa ya que la β-glucuronidasa del tejido canceroso actúa en el ácido 1-β-glucurónico, y llevando al HCN a ser mortal. Muchos informes japoneses y americanos muestran que tiene un efecto curativo obvio, pero hay algunos informes contrarios, y hay casos en los que da como resultado la muerte después de tomarlo. Por lo tanto, existe disputa frente a su valor anticanceroso. En la actualidad, el America State Cancer Institute está tratando clínicamente a 200 pacientes de cáncer en los que no tienen efecto otros remedios.

Paquiman

Durante los pasados 10 años, se han informado de más estudios, ya que el resultado que muestra efectos antitumorales obvios de Chitosan, Paquina y Amorphalls mannan ha llamado la atención de los investigadores en los 5 campos de la química, bioquímica, fitoquímica, física y farmacia.

Prueba de estabilidad de CCP

Se ensayaron tres lotes de CCP (Numero de lote: 960302, 960315, 960321) de la estabilidad a temperatura ambiente durante 36 meses. Se ensayaron los siguientes artículos, entre los cuales el contenido de Paeonol se ensayó como un índice de los principales ingredientes: Apariencia (el producto debe ser gránulos de color amarillo parduzco, oler ligeramente a hierbas aromáticas y tener un sabor un poco amargo); identificación de Cinnamomi y Poria (los resultados se muestran como positivos o negativos); la cantidad de Paeonol (%; procedimiento de HPLC); contenido de agua o pérdida de peso después del secado en el termostato (%); Inspección higiénica (numero de bacterias, hongos y ácaros). El resultado se muestra en la tabla 1.

Tabla 1. Ensayo de estabilidad de CCP (temperatura ambiente)

Tiempo	0 meses (1996,3)			3 meses (1996,6)		
	960302	960315	960321	960302	960315	960321
Lote Nº						
Aspecto	Gránulos de color amarillo parduzco, aromático, ligeramente amargo			Gránulos de color amarillo parduzco, aromático, ligeramente amargo		
Cinnamomi	+	+	+	+	+	+
Poria	+	+	+	+	+	+
Desintegración (min)	7	7	9	7	7	7
Variación de peso	Cumple con los requisitos de calidad especificados			Cumple con los requisitos de calidad especificados		
% de cont. de agua	5,1	5,4	4,8	5,1	5,4	4,8
Bacteria/g	20	30	20	30	30	20
Fungi/g	10	20	10	20	20	20
Colibacillus	No ensayado			No ensayado		
Acárido	No ensayado			Negativo		
Paeonol (%)	0,78	0,876	0,80	0,78	0,76	0,80

Tiempo	6 meses (1996,9)			12 meses (1997,9)		
	960302	960315	960321	960302	960315	960321
Lote Nº						
Aspecto	Gránulos de color amarillo parduzco, aromático, ligeramente amargo			Gránulos de color amarillo parduzco, aromático, ligeramente amargo		
Cinnamomi	+	+	+	+	+	+
Poria	+	+	+	+	+	+
Desintegración (min)	8	8	9	9	7	8
Variación de peso	Cumple con los requisitos de calidad especificados			Cumple con los requisitos de calidad especificados		
% de cont. de agua	5,2	5,4	4,9	5,1	5,4	4,8
Bacteria/g	30	30	20	30	30	20
Fungi/g	20	20	20	20	20	20
Colibacillus	No ensayado			No ensayado		
Acárido	Negativo			No ensayado		
Paeonol (%)	0,78	0,76	0,80	0,77	0,76	0,81

20

Tiempo	18 meses (1997,9)			24 meses (1998,3)		
	960302	960315	960321	960302	960315	960321
Lote Nº						
Aspecto	Gránulos de color amarillo parduzco, aromático, ligeramente amargo			Gránulos de color amarillo parduzco, aromático, ligeramente amargo		
Cinnamomi	+	+	+	+	+	+
Poria	+	+	+	+	+	+
Desintegración (min)	9	8	8	8	8	9
Variación de peso	Cumple con los requisitos de calidad especificados			Cumple con los requisitos de calidad especificados		
% de cont. de agua	5,1	5,4	4,8	5,2	5,5	4,9

Bacteria/g	30	30	20	30	30	20
Fungi/g	20	20	20	20	20	20
Colibacillus	No ensayado			No ensayado		
Acárido	Negativo			Negativo		
Paeonol (%)	0,78	0,75	0,79	0,77	0,76	0,80

Tiempo	30 meses (1998,9)			36 meses (1998,3)		
Lote N°	960302	960315	960321	960302	960315	960321
Aspecto	Gránulos de color amarillo parduzco, aromático, ligeramente amargo			Gránulos de color amarillo parduzco, aromático, ligeramente amargo		
Cinnamomi	+	+	+	+	+	+
Poria	+	+	+	+	+	+
Desintegración (min)	9	7	8	9	8	8
Variación de peso	Cumple con los requisitos de calidad especificados			Cumple con los requisitos de calidad especificados		
% de cont. de agua	5,2	5,5	4,9	5,2	5,5	4,9
Bacteria/g	30	30	30	30	30	20
Fungi/g	20	20	20	20	20	20
Colibacillus	No ensayado			No ensayado		
Acárido	No ensayado			Negativo		
Paeonol (%)	0,77	0,75	0,80	0,77	0,76	0,79

Huella de cápsula de Cinnamomi y Poria

5 1) Cromatografía de gases de la materia volátil de CCP

Requisitos de sistema: columnas capilares de siloxeno fenilmetil al 5% HP-5 (30,0 m x 0,32 mm x 0,25 µm); temperatura de las columnas 80 °C (5 min) a 250 °C (10 min) elevándola a 3 °C/min; el gas vehículo es nitrógeno con un caudal de 1,5 ml/min; detector FDI con 40 ml/min de hidrógeno, 350 ml/min de aire; gas de composición: 30 ml/min de nitrógeno; temperatura del sistema entrada 250 °C; inyección de división con 50:1 en relación de división y 2 µm de volumen; temperatura del detector 280 °C; tiempo de registro 72 minutos.

Preparación de la solución de la muestra de material volátil: Se añaden 50 ml de agua y 30 ml de éter etílico al contenido de 10 cápsulas de Cinnamomi y Poria. Se extrae la solución a reflujo de un baño de agua de 75 °C durante 90 minutos y se deja enfriar. Se extrae tres veces la fase de agua de la solución con 20 ml de éter etílico y se combinan todas las soluciones de éter etílico. Se volatilizan para secar la solución de éter etílico en un baño de agua de 35 °C y, finalmente, se añade éter etílico para preparar 5 ml en volumen.

Preparación de la solución convencional de cinnamaldehído: Se prepara la solución de éter etílico de cinnamaldehído que contiene 0,5 mg/ml de cinnamaldehído.

Ensayo de ajuste del sistema: 1) Numero de placas teóricas: en circunstancias determinadas se inyectan 2 µl de una solución de cinnamaldehído convencional en el cromatografía de gases. En base a los cálculos del pico de cinnamaldehído, el número de placas teóricas no debe ser menos de 800.000. 2) Precisión del sistema: La desviación convencional relativa (RSD) de las áreas de pico en cinco inyecciones consecutivas de 2 µl de solución de cinnamaldehído convencional no debe ser más del 3,0%.

Tabla 2. Picos de materia volátil en CCP, Cromatografía de Gases; pico convencional: cinnamaldehído (auto-comparación), pico 4: paeonol (véase la Figura 1 para CG de la materia volátil)

Número de Pico	Retención Tiempo/Área	Intervalo de Tiempo de Retención	Intervalo de Área
1	0,757/1,183	0,770~0,745	1,740~0,690
Típica	1/1		
2	1,275	1,280~1,270	
3	1,290/0,696	1,295~1,285	1,110~0,350
4	1,449/ 5,565	1,455~1,440	8,080~3,460
5	1,704/0,093	1,710~1,700	0,140~0,060
6	2,146/0,164	2,150~2,140	0,255~0,080
7	3,061/0,115	3,070~3,055	0,160~0,070

2) HPLC de la materia soluble en agua de CCP

ES 2 377 192 T3

Requisitos del sistema: columna de espectro: Alltima C₁₈ 5 µm, 7,5 mm x 4,6 mm (precolumna) y 250 nm x 4,6 mm (columna de espectro); temperatura de la columna 30 °C; caudal: 1 ml/min, longitud de onda de detección 230 nm; volumen de inyección 5 µl; tiempo de registro 70 minutos.

Fase de flujo: CH₃CN-H₂O-H₃PO₄
 A 50:950:1
 B 400:600:1

A $\xrightarrow{70\text{ min}}$ B

5

Preparación de la solución de la muestra de materia soluble en agua: Se añaden 200 ml de agua al contenido de 3 cápsulas. Se extrae la solución a reflujo durante 30 minutos (después de la ebullición) y se deja enfriar. Se centrifuga la solución durante 10 minutos y se filtra su sobrenadante con una membrana de filtro de 0,45 µm para obtener el filtrado.

10

Preparación de la solución de paeoniflorina convencional: se prepara la solución en metanol de paeoniflorina que contiene 0,5 mg/ml de paeoniflorina.

Ensayo de ajuste del sistema: 1) Número de placas teóricas: en determinadas circunstancias, se inyectan 2 µl de una solución de paeoniflorina convencional en el análisis por HPLC. En base al cálculo en el pico de paeoniflorina, el número de placas teóricas no debe ser menos de 250.000. 2) Precisión del sistema: La Desviación Típica Relativa (RSD) de las áreas del pico en cinco inyecciones consecutivas de 1 µl de una solución de paeoniflorina convencional no debe ser más del 3,0%.

20 Tabla 3. Picos de materia soluble en agua, HPLC; pico Típico: paeoniflorina (auto-comparación), pico 1: ácido gálico, pico 4: albiflorina, pico 10: 1,2,3,4,6-penta-O-galoil-β-D-glucosa, pico 13: en su mayor parte paeonol (véase Figura 2 para HPLC de materia soluble en agua)

Pico Número	Retención Tiempo/Área	Intervalo del tiempo de retención	Intervalo del área
1	0,261/0,645	0,275~0,250	0,750~0,460
2	0,349/0,103	0,360~0,340	0,160~0,070
3	0,584/0,128	0,600~0,560	0,230~0,065
4	0,915/0,212	0,920~0,910	0,250~0,170
Típica	1/1		
5	1,076/0,089	1,085~1,070	0,130~0,065
6	1,118/0,046	1,125~1,110	0,060~0,035
7	1,162/0,052	1,175~1,155	0,080~0,030
8	1,196/0,083	1,210~1,180	0,105~0,055
		(continúa)	
Pico Número	Retención Tiempo/Área	Intervalo del tiempo de retención	Intervalo del área
9	1,268/0,076	1,285~1,250	0,090~0,065
10	1,312/0,211	1,330~1,295	0,255~0,140
11	1,420/0,404	1,450~1,400	0,470~0,310
12	2,107/0,149	2,170~2,060	0,195~0,130
13	2,389/0,981	2,465~2,340	1,475~0,680

25 3) HPLC de la materia liposoluble de CCP

Requisitos del Sistema: Columna de espectro: Alltima C₁₈ 5 µm, 7,5 mm x 4,6 mm (precolumna) y 250 nm x 4,6 mm (columna de espectro); temperatura de la columna: 50 °C; caudal: 1 ml/min, longitud de onda de detección 210 nm y 242 nm; volumen de inyección 5 µl; tiempo de registro 76 minutos.

30

Fase de flujo: CH₃CN-H₂O-H₃PO₄
 A 600:400:1
 B 950:50:1

A (25min) $\xrightarrow{40\text{ min}}$ B (11min)

Preparación de la solución de muestra de material liposoluble: se usa el depósito de precipitación que se obtiene después del procedimiento de centrifugación en una preparación de solución soluble en agua. Se aclara el depósito con agua hasta que se vuelve incoloro. Se añaden 20 ml de metanol al depósito, se extrae la solución a reflujo durante 30 minutos (después de la ebullición) y se deja enfriar. Se centrifuga la solución durante 10 minutos. Se

volatiliza para secar el metanol de la solución en un baño de agua de 75 °C, y finalmente, se añade cierta cantidad de metanol para preparar la solución de forma que tenga 2 ml de volumen, se filtra con una membrana de filtro de 0,45 µm y se obtiene el filtrado.

- 5 Preparación de la solución de materia prima de Poria convencional: Se añaden 10 ml de metanol en 1 g de polvo de Poria. Se extrae la solución a reflujo durante 30 minutos (después de la ebullición) y se deja enfriar. Después de la centrifugación, se filtra el sobrenadante con una membrana de filtro de 0,45 µm y se obtiene el filtrado.

Se usa materia prima de Poria convencional en la localización e identificación de dos productos químicos en muestras liposolubles: Ácido paquímico y ácido poliporénico C a 210 y 242 nm, respectivamente. El ácido paquímico y el ácido poliporénico C son productos químicos de las muestras y sirven como picos típicos.

Ensayo del sistema de ajuste: Lo mismo con HPLC de materia soluble en agua.

- 15 Tabla 4. Picos de materia liposoluble, HPLC 210 nm; pico Típico: ácido paquímico (auto-comparación), el pico 1 contiene ácido deshidrorrumulósico, el pico 6 contiene ácido 3-β-hidroxilanososa-7,9 (11), 24-trien-21-oico (véase la Figura 3 para HPLC, 210 mn de materia liposoluble)

Pico Número	Retención Tiempo/Área	Intervalo del tiempo de retención	Intervalo del área
1	0,367/0,322	0,375~0,355	0,540~0,180
2	0,408/0,580	0,420~0,395	0,900~0,410
3	0,897/0,280	0,905~0,890	0,350~0,220
4	0,980/0,752	0,985~0,975	0,940~0,600
Típica	1/1		
5	1,019/0,286	1,025~1,015	0,410~0,210
6	1,143/4,650	1,150~1,135	5,950~2,900
7	1,305/ 0,959	1,315~1,295	1,450~0,575

- 20 Tabla 5. Picos de materia liposoluble, HPLC 242 nm; Pico típico: ácido poliporénico C (auto-comparación), el pico 3 contiene ácido deshidrotumulósico, el pico 4 contiene ácido 3-epi-deshidrotumulósico, el pico 6: ácido deshidropaquímico, el pico 7 contiene ácido 3 β-hidroxilanososa-7,9(11),24-trien-21-oico (véase la figura 4 para HPLC, 242 mn de materia liposoluble)

Pico Número	Retención Tiempo/Área	Intervalo del tiempo de retención	Intervalo del área
1	0,520/0,155	0,530~0,510	0,185~0,120
2	0,566/0,184	0,570~0,560	0,230~0,140
3	0,686/1,385	0,690~0,680	1,950~0,900
4	1/1		
Típica	1,128/0,481	1,135~1,125	0,530~0,430
5	1,557/0,181	1,585~1,525	0,240~0,150
6	1,763/1,414	1,800~1,720	1,700~1,250
7	2,133/0,630	2,190~2,070	0,840~0,480
8	3,033/0,463	3,105~2,950	0,680~0,160

- 25 **Experimento de farmacodinámica principal sobre el efecto del remedio de la Cápsula de Cinnamomi y Poria (CCP)**

Con el fin de determinar los efectos curativos de la CCP, es necesario aplicar la investigación experimental con animales. La investigación con animales mostró que la CCP relaja los músculos lisos, ayuda a reducir la viscosidad sanguínea, inhibe la aglutinación de las plaquetas sanguíneas y también tiene funciones antiinflamatorias. Los ensayos en la contracción uterina extracorpórea de ratas y los efectos analgésicos sobre ratas vivas, etc., se hicieron de acuerdo con los requisitos de investigación farmacodinámica principales para enfermedades de hipocoagulabilidad establecidas en el "Nuevo Directorio de Investigación de la Medicina Tradicional China", presentado por el departamento de sanidad de la Administración de Fármacos del departamento de sanidad de China.

- La cápsula de Cinnamomi y Poria provoca un efecto inhibitor sobre la contracción del músculo y sobre el útero extracorpóreo de ratas. El uso de 2,7 mg/ml de extracto de CCP, hace posible una ganancia de control al 100% de la contracción del útero extracorpóreo. Al comparar los resultados del grupo de control con la solución salina normal, una cantidad más pequeña de CCP (extracto formado de pomada 1,9 mg/ml, 1,3 mg/ml) puede inhibir parcialmente la frecuencia de la contracción del músculo liso ($P<0,05$), intervalo ($P<0,05$) y su actividad global ($p<0,001$, $p<0,01$). Los resultados mostraron que existe una relación dosis-efecto cerrada entre la concentración de CCP y el efecto inhibitor.

Los resultados también mostraron que un extracto de CCP de 5,4 mg/ml puede contrarrestar el efecto de la alfahipofamina, que al mismo tiempo puede aumentar la frecuencia de la contracción del útero extracorpóreo de las ratas. Se administró a los ratones el extracto del CCP durante tres días consecutivos. Una hora después de que las cápsulas se hubieran administrado el tercer día, se inyectó ácido acético en el abdomen. Se observó las veces que se retorcián los ratones, que es una reacción al dolor. Los resultados mostraron que 0,63 g/kg o 1,26 g/kg del extracto de CCP pueden reducir las veces que se retuercen los ratones, se induce mostrando una diferencia significativa ($p < 0,05$, $p < 0,01$) al compararse con el grupo de control negativo (solución salina normal) en lugar de CCP.

10 Una dosis alta de CCP (1,26 g/kg) dio como resultado una tasa de control del grupo de veces de que se retorcián los ratones similar al que se obtuvo a partir del grupo de control positivo (grupo de aspirina, 56,9% y 61,08% respectivamente). El efecto de altas dosis también puede prolongar las veces que los ratones retuercen sus colas, que también es una reacción al dolor. Dichos experimentos de analgesia demostraron que al igual que la aspirina, el CCP tenía un efecto analgésico definido.

15 A los ratones se les administró el fármaco durante 5 días consecutivos. Media hora después de la administración de la cápsula el quinto día, los ratones se anestesiaron ligeramente con éter y se hicieron análisis de sangre de las ratas de la aorta abdominal para determinar la relación de la viscosidad de sangre completa. Los resultados mostraron que administrando una CCP de 5,0 g/kg, había un descenso en la relación de la viscosidad de sangre completa. Esto explica la existencia de una diferencia significativa cuando estos resultados se comparan con los obtenidos a partir de el grupo de control de solución salina normal (tensión baja $P < 0,01$, tensión alta $P < 0,05$). La relación de viscosidad de sangre completa continuó disminuyendo cuando la dosis se elevó. Los resultados del experimento demostraron la eficacia de la CCP cuando se usa para reducir la relación de la viscosidad de sangre completa de ratas.

25 Los resultados proporcionaron pruebas de que 12,5 mg/ml de CCP pueden reducir la tasa de conglomeración de las plaquetas sanguíneas. Existe una diferencia significativa entre estos resultados y los obtenidos a partir del grupo de control de solución salina normal ($p < 0,05$). La tasa de conglomeración de las plaquetas sanguíneas descendió según la dosis aumentó (el polvo de CCP fue 37,5 mg/ml y 75 mg/ml respectivamente).

30 Los experimentos de conglomeración de plaquetas sanguíneas indicaron que un extracto de 10 g/kg de CCP redujo la tasa de conglomeración de las plaquetas sanguíneas. Cuanto más se aumentaba la dosis de CCP, más fuerte era el efecto. Los resultados de los experimentos sobre la conglomeración de las plaquetas sanguíneas también demostraron que la CCP podía inhibir la tasa de aumento de la conglomeración de las plaquetas sanguíneas inducidas por ADP.

Se administró a los ratones el fármaco durante tres días consecutivos. El tercer día, se untó un agente de inducción antiinflamatorio en la oreja derecha de ratón. Los animales se sacrificaron dos días después de que se untaran. Los resultados indicaron que el extracto de CCP redujo la hinchazón de la oreja ($P < 0,01$). En base a los resultados obtenidos en este experimento, se demostró que la CCP tenía un efecto antiinflamatorio positivo. La investigación demostró que la CCP tenía efectos acesodinos, antiespasmódicos y antiinflamatorios. Puede disminuirse la viscosidad de sangre completa, e inhibirse la conglomeración de las plaquetas sanguíneas.

Propósito del experimento

45 La CCP tiene los siguientes efectos: libera la contracción del músculo liso del útero extracorpóreo de ratas, actúa contra la contracción del músculo liso mejorada inducida por oxitocina, reduce las veces que se retuerce el ratón que se indujeron por ácido acético y prolonga el tiempo que retuercen la cola los ratones a causa de la temperatura. La CCP reduce la relación de la viscosidad de sangre completa, e inhibe la tasa de conglomeración de las plaquetas sanguíneas de conejos. La CCP tenía efectos acesodinos, antiespasmódicos y antiinflamatorios. También tiene la propiedad de reducir la relación de la viscosidad de sangre completa, controla la conglomeración de las plaquetas sanguíneas, y puede usarse para el tratamiento de dismenorrea en la práctica clínica.

Contracción uterina

55 La CCP puede activar la circulación sanguínea y eliminar la estasis. Se usa en su mayor parte para tratar síntomas de la dismenorrea y trastornos de descamación del endometrio, o muchos trastornos pélvicos comunes causados por el movimiento o espasmos del músculo liso en la práctica clínica en China. Esta investigación se realizó con el fin de establecer los efectos que la CCP tiene sobre la contracción uterina y sus posibles efectos curativos.

Materiales

Animal:

65 Ratas Wister hembra con un peso de 180 g a 190 g. Las ratas se suministraron por el centro de animales experimentales de Nanjing Railway Medical Institute (Nº de certificado. 97002, 97003). Las ratas tuvieron acceso a

comida, agua, luz solar, una vez a la semana antes del experimento.

Medicinas:

- 5 Extracto de CCP (1 g de producto de CCP corresponde a 4 g del extracto), Proporcionado por Lianyungang Kanion Pharmaceutical Co. Ltd. (lote N° 990515).

Dihidroteelina (2 mg/ml), N° de lote: 971103. Producida por Shanghai 9th Pharmaceutical Factory.

- 10 Inyección de Oxitocina (10 µ/ml), N° de lote: 981228. Producida por Shanghai biochemistry Pharmaceutical Factory.

Pregnenolona: Proporcionada por el Dr. Swerdoiff de LAC-UCLA Medical Center.

Equipo:

- 15 Transductor de tensión muscular JZ100 producido por Nanbeidlan City Xinhang Electro-mechanical Equipment Co. Ltd.

Súper termostato del Tipo Yinhe 501 producido por Chongqing City Experimental Equipment Factory.

- 20 Procesador de Información Fisiológica MS302 proporcionado por Pharmacology Staff Room of Guangzhou Pharmacy Institute.

Los datos recogidos por este experimento se almacenaron en un Pentium II 300.

25

Procedimientos

Preparación del fármaco:

- 30 a) Se ponen 5,4 g de extracto de CCP en 100 ml de la solución de Locke y se mezclaron vigorosamente. La concentración del fármaco da como resultado 54 mg/ml. Se toma 1 ml de esta solución, se pone en un conducto homeotérmico con 9 ml de la solución de Locke. La concentración del fármaco de esta mezcla contiene 5,4 mg/ml. Asimismo, se ponen 2,7 g de extracto de CCP en 100 ml de la solución de Locke y se mezclan peligrosamente. Se toma 1 ml de esta mezcla, se combina con 9 ml de la solución de Locke y la concentración del fármaco dará como resultado 2,7 mg/ml. Se mezclan 100 ml de la solución de Locke con 1,9 g de extracto de CCP. Se toma 1 ml de esta mezcla, se combina con 9 ml de la solución de Locke y la concentración del fármaco dará como resultado 1,9 mg/ml. Se mezclan 200 ml de la solución de Locke con 2,6 g de extracto de CCP, la concentración dará como resultado 13 mg/ml. Se toma 1 ml de esta mezcla, se combina con 9 ml de la solución de Locke que da como resultado una concentración del fármaco de 1,3 mg/ml. Se mezclan 200 ml o 300 ml de la solución de Locke con 1,8 g de CCP resultante de una concentración de fármaco de 9 mg/ml y 6 mg/ml respectivamente. Se toma 1 ml de esta mezcla en un conducto homeotérmico con 9 ml de la solución de Locke. El resultado es una concentración de fármaco que contiene 0,9 mg/ml y 0,6 mg/ml respectivamente.

Preparación de la solución de Locke

45

9,0 g de NaCl, 0,42 g de KCl, 0,24 g de CaCl₂, 0,2 g de NaHCO₃ y 1,0 g de glucosa. Se mezcla con agua destilada hasta obtener 1000 ml. El pH es de aproximadamente 7.

Procedimiento experimental

50

Veinticuatro horas antes del experimento, se inyectaron por vía intramuscular ratas hembra no embarazadas con una dosis en peso de 0,3 mg/kg de dihidroteelina. El efecto las pone artificialmente en un periodo de menstruación para aumentar su sensibilidad a la CCP. Las ratas se decapitan, se les hace una incisión en la tripa rápidamente, se recogen los úteros y se elimina la grasa. Se cortan los úteros en 2 cm de longitud y se ponen directamente en el conducto homeotérmico con 9 ml de la solución de Locke. Un extremo del útero debe fijarse al gancho del conducto de ventilación con forma de L y el otro extremo conectado al transductor de tensión muscular. Se mantiene la temperatura del conducto homeotérmico a 32 °C. Se emite continuamente oxígeno al conducto, al menos 60-80 vesículas por minuto y se añaden en 1 ml de la solución previa con una concentración diferente. Después de registrar los segmentos de curva de concentración normal, se observan las diferentes fases antes y después de la administración del fármaco. Respectivamente, se registra la frecuencia y velocidad de contracción. Se observa a partir de 1 a 10, 10 a 20, y 20 a 30 minutos antes y después de añadir la solución del fármaco. Se hace un recuento de la actividad uterina, y los datos de registro entre los grupos de control antes y después de administrar el fármaco.

60

- Se observa el efecto de la CCP en la contracción del músculo liso del útero extracorpóreo de las ratas inducida por oxitocina. Respectivamente, se registran la frecuencia y el intervalo de las contracciones. Se observa de 1 a 10, de 10 a 20 y de 20 a 30 minutos antes y después de añadir la solución del fármaco. Se hace un recuento de la actividad

65

uterina y el porcentaje de inhibición. Los datos se registran como se ha hecho previamente.

Procesamiento de datos:

5 Actividades = Frecuencia * Intervalo

$$\text{Porcentaje de inhibición} = \frac{\text{Frecuencia antes de la administración (o intervalo, actividades)} - \text{Frecuencia después de la administración (o intervalo, actividades)}}{\text{Frecuencia antes de la administración (o intervalo, actividades)}} \times 100\%$$

Todos los datos se muestran con el valor medio ± desviación típica (X ± DT); todos los datos entre los grupos y en cada grupo se examinan usando el valor t con el fin de observar cualquier diferencia significativa.

10 Efecto en la contracción del músculo liso uterino de ratas normales

Agrupamiento de los animales: Se dividen de forma aleatoria los úteros extracorpóreos de ratas hembra Wister en un grupo de control de solución salina normal (NSG) y un grupo de CCP (CCPG). La dosis de cada grupo es respectivamente 2,7, 1,9, 1,3, 0,9 y 0,6 mg/ml de extracto de CCP.

15

Resultados: en condiciones estables, los úteros extra-corpóreos pueden mantenerse activos continuamente en un periodo de 60 minutos. En la concentración de 7 µg/ml, la pregnendiona puede controlar la frecuencia de contracción del músculo liso uterino de las ratas. Dosis más grandes de extracto de CCP (2,7, 1,9, 1,3 mg/ml) pueden controlar la frecuencia de contracción (véanse las Tablas 2 y 3), el intervalo (véanse las Tablas 4 y 5) y la actividad (véanse las tablas 6 y 7) del músculo liso uterino de las ratas en diferentes grados. Una dosis de 2,7 mg/ml del extracto de CCP puede detener la contracción del músculo liso uterino. El efecto del fármaco produce en el músculo liso uterino la contracción que puede advertirse diez minutos después de que el fármaco se haya administrado. El porcentaje de control puede obtener el 100% (p<0,001).

25 Tabla 6. Influencia del extracto de CCP en la frecuencia de la contracción del músculo liso uterino extra-corpóreo de las ratas (veces/10 min)

Grupo	(X ± DT)			
	Antes adm.	Después adm.	Después adm.	Después adm.
		1-10 min	0-20 min	20-30 min
NSG	7,5 ± 1,0	8,1 ± 0,7	8,4 ± 1,7	7,8 ± 0,9
Progestina				
7 µg/ml	8,0 ± 0,8	6,1 ± 2,0	6,3 ± 2,5	5,0 ± 2,4*
CCP				
2,7 mg/ml	7,4 ± 1,4	1,7 ± 1,5**	0***	0***
1,9 mg/ml	7,9 ± 2,7	5,0 ± 1,8	2,9 ± 3,9*	2,7 ± 3,6*
1,3 mg/ml	8,2 ± 1,3	5,4 ± 1,4*	4,2 ± 2,4*	4,1 ± 3,0
0,9 mg/ml	10,8 ± 2,9	7,8 ± 1,7	7,8 ± 2,4	7,6 ± 4,4
0,6 mg/ml	8,3 ± 3,1	6,9 ± 2,3	8,3 ± 3,3	8,0 ± 3,9

*p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001 (comparar con él mismo después de la administración)

30 Tabla 7. Influencia del extracto de CCP en la frecuencia de la contracción del músculo liso uterino extra-corpóreo de las ratas (Porcentaje de control %)

Grupo	Después adm.	Después adm.	Después adm.
	1-10 min	10-20 min	20-30 min
NSG	-8	-12,0	-5,3
Progestina			
7 µg/ml	23,8	21,3	37,5
CCP			
2,7 mg/ml	77,0	100,0	100,0
1,9 mg/ml	36,7	63,3	65,8
1,3 mg/ml	34,1	48,9	50,0
0,9 mg/ml	27,8	27,8	29,6
0,6 mg/ml	16,9	0	3,6

Tabla 8. Influencia del extracto de CCP en la frecuencia de la contracción del músculo liso uterino extra-corpóreo de las ratas (mm)

Grupo	Antes adm.	Después adm. 1-10 min	Después adm. 10-20 min	Después adm. 20-30 min
<u>NSG</u>	8,1 ± 2,1	8,3 ± 1,7	8,4 ± 2,0	8,4 ± 2,5
<u>Progestina</u>				
7 µg/ml	8,6 ± 2,2	7,4 ± 2,3	7,0 ± 2,6	7,0 ± 2,8
<u>CCP</u>				
2,7 mg/ml	10,8 ± 1,3	7,4 ± 5,2	0,0 ± 0,0***	0,0 ± 0,0***
1,9 mg/ml	9,5 ± 1,8	7,0 ± 2,2 (continúa)	2,8 ± 2,7**	1,7 ± 2,4**
Grupo	Antes adm.	Después adm. 1-10 min	Después adm. 10-20 min	Después adm. 20-30 min
1,3 mg/ml	10,4 ± 1,9	7,5 ± 2,0*	5,3 ± 2,2*	4,9 ± 2,4*
0,9 mg/ml	9,2 ± 1,9	8,7 ± 1,9	8,1 ± 1,5	7,8 ± 1,4
0,6 mg/ml	8,8 ± 2,3	8,8 ± 2,3	8,7 ± 2,7	9,3 ± 2,5

*p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001 (comparar con él mismo antes de la administración)

5 Tabla 9. Influencia de la extracción de CCP en el intervalo de la contracción del músculo liso uterino extra-corpóreo de las ratas (% porcentaje de control)

Grupo	Después adm. 1-10 min	Después adm. 10-20 min	Después adm. 20-30 min
<u>NSG</u>	-2,5	-3,7	-6,2
<u>Progestina</u>			
7 µg/ml	14,0	18,6	18,6
<u>CCP</u>			
2,7 mg/ml	31,5	100	100
1,9 mg/ml	26,3	70,5	82,1
1,3 mg/ml	27,9	49,0	52,9
0,9 mg/ml	5,4	12,0	15,2
0,6 mg/ml	0	1,1	-5,7

10 Tabla 10. Influencia de la extracción de CCP en la actividad de la contracción del músculo liso uterino extra-corpóreo de las ratas (%)

Grupo	(X ± DT)			
	Antes adm.	Después adm. 1-10 min	Después adm. 0-20 min	Después adm. 20-30 min
<u>NSG</u>	61,5 ± 22,9	67,9 ± 17,7	72,2 ± 26,2	65,7 ± 18,3
<u>Progestina</u>				
7 µg/ml	69,3 ± 20,9	47,2 ± 22,9	46,3 ± 27,9	35,2 ± 22,5
<u>CCP</u>				
2,7 mg/ml	79,9 ± 15,9	16,7 ± 13,2	0***	0***
1,9 mg/ml	74,1 ± 29,8	34,6 ± 14,0*	13,2 ± 16,6**	7,9 ± 10,2**
1,3 mg/ml	85,6 ± 19,0	41,5 ± 18,4*	23,6 ± 18,1*	23,2 ± 27,5*
0,9 mg/ml	99,0 ± 36,2*	65,4 ± 12,0	63,5 ± 26,4	58,6 ± 33,2
0,6 mg/ml	71,7 ± 31,8	59,9 ± 24,8	70,0 ± 33,1	73,6 ± 40,9

*p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001

Tabla 11. Influencia del extracto de CCP en la actividad de contracción del músculo liso uterino extra-corpóreo de las ratas (% de control)

Grupo	Después de adm. 1-10 min	Después de adm. 10-20 min	Después de adm. 20-30 min
<u>NSG</u>	-10,4	-17,4	-6,8
<u>Progestina</u>			
7 µg/ml	31,9	33,2	49,2
<u>CCP</u>			
2,7 mg/ml	79,1	100	100
1,9 mg/ml	53,3	82,2	89,3
1,3 mg/ml	51,5	72,4	72,9
0,9 mg/ml	33,9	35,9	40,1
0,6 mg/ml	16,5	2,4	-2,6

5 Los resultados mostraron que el extracto de CCP puede inhibir la contracción del útero de las ratas normal. Una dosis de 0,6-2,7 mg/ml de CCP determina los efectos de mejora de la cápsula con el aumento de la dosis. Esto cuenta como una relación dosis-efecto.

Efecto de la CCP en la contracción del músculo liso uterino inducida por oxitocina

10

Agrupamiento de los animales: Se dividieron de forma aleatoria úteros extra-corpóreos de ratas Wister hembra en grupo de control de solución salina normal (NSG) y un grupo de CCP. El grupo de control de CCP está formado por 4 subgrupos con siete úteros cada uno. La dosis del extracto de CCP es respectivamente 5,4, 2,7, 1,3 y 0,6 mg/ml.

15 Resultados: después de añadir 10 µg/ml de oxitocina al músculo liso uterino normal hay un aumento de la frecuencia de contracción y la actividad uterina. El intervalo de contracción también se ve afectado alcanzando su pico durante aproximadamente 10 min para después estabilizarse en el nivel. Después de 40 minutos, el efecto cae gradualmente. Después de que la oxitocina reaccione durante 10 minutos, se añade en una dosis diferente de extracto de CCP, y se comparan las posibles diferencias entre el grupo de CCP y el grupo de oxitocina. Una dosis de 20 5,4, 2,7 mg/ml de extracto de CCP puede controlar el aumento de la actividad uterina inducida por oxitocina, y principalmente reducir la frecuencia de contracción del músculo liso uterino (Véase la Tabla 8 y 13).

Tabla 12. Influencia del extracto de CCP en la frecuencia de contracción del músculo liso uterino inducida por oxitocina

25

Grupo	Antes adm.	Después adm. 1-10 min	Después adm. 10-20 min	Después adm. 20-30 min
<u>NSG</u>	7,5 ± 1,0	8,4 ± 1,7	7,8 ± 0,9	7,3 ± 1,5
<u>Oxitocina</u>	7,0 ± 1,3	11,7 ± 1,5	11,6 ± 1,9	10,9 ± 1,17
<u>Oxitocina+CCP</u>				
5,4 mg/ml	8,5 ± 1,6	6,6 ± 0,9*	5,3 ± 1,0**	3,4 ± 1,8**
2,7 mg/ml	7,9 ± 1,6	8,9 ± 1,3*	8,8 ± 1,3*	7,8 ± 1,0*
1,3 mg/ml	8,4 ± 2,8	11,1 ± 1,6	11,6 ± 3,1	10,6 ± 2,6
0,6 mg/ml	9,2 ± 1,5*	13,3 ± 2,0	12,4 ± 3,2	11,5 ± 2,3

*p<0,05 **p<0,01 ***p<0,001 (comparar con frecuencia de fase relevante del grupo de oxitocina)

Tabla 13. Influencia del extracto de CCP en la frecuencia de contracción del músculo liso uterino inducida por oxitocina (% de control)

Grupo	Oxitocina	Después adm. 1-10 min	Después adm. 10-20 min	Después adm. 20-30 min
<u>NSG</u>	-8	-12	-5,3	2,7
<u>Oxitocina</u>	-91,4	-67,1	-65,7	-55,7
<u>Oxitocina+CCP</u>				
5,4 mg/ml	-83,5	20,0	37,6	60,0
2,7 mg/ml	-110,1	-12,7	-11,4	1,3
1,3 mg/ml	-113,1	-32,1	-38,1	-26,2
0,6 mg/ml	-77,2	-44,6	-34,8	-25,0

30

Tabla 14. Influencia del extracto de CCP en la tasa de contracción del músculo liso uterino inducida por oxitocina (mm)

Grupo	(X ± DT)				
	Antes adm.	Oxitocina	Después adm. 1-10 min	Después adm. 10-20 min	Después adm. 20-30 min
<u>NSG</u>	8,1 ± 2,1	8,3 ± 1,7	8,4 ± 2,0	8,6 ± 2,5	7,6 ± 1,5
Oxitocina	8,0 ± 2,6	7,3 ± 3,2	9,7 ± 5,0	10,4 ± 5,7	9,7 ± 6,1
<u>Oxitocina+CCP</u>					
5,4 mg/ml	7,4 ± 0,9	7,2 ± 2,2	7,3 ± 1,1	6,7 ± 1,2	5,8 ± 1,7
2,7 mg/ml	8,9 ± 2,7	7,5 ± 2,8	9,5 ± 2,7	10,3 ± 3,3	9,7 ± 2,7
1,3 mg/ml	9,2 ± 2,3	8,6 ± 2,3	10,2 ± 1,8	10,6 ± 1,8	10,9 ± 2,3
0,6 mg/ml	8,5 ± 2,2	7,1 ± 3,7	8,7 ± 5,2	8,9 ± 5,1	9,1 ± 5,7

*p<0,05 **p<0,01 ***p<0,001 (comparar con el grupo de oxitocina)

5 Tabla 15. Influencia del extracto de CCP en el intervalo de contracción del músculo liso uterino inducida por oxitocina (% de control)

Grupo	Antes adm.	Después adm. 1-10 min	Después adm. 10-20 min	Después adm. 20-30 min
<u>NSG</u>	-2,5	-3,7	-6,2	6,2
Oxitocina	8,8	-21,3	-30,0	-21,3
<u>Oxitocina+CCP</u>				
5,4 mg/ml	4,1	1,4	9,5	21,6
2,7 mg/ml	15,7	-6,7	-15,7	-9,0
1,3 mg/ml	6,5	-10,9	-15,2	-18,5
0,6 mg/ml	16,5	-2,4	-4,7	-7,1

10 Tabla 16. Influencia del extracto de CCP en la actividad de contracción del músculo liso uterino inducida por oxitocina (%)

Grupo	(X ± DT)				
	Antes adm.	Oxitocina	Después adm. 1-10 min	Después adm. 10-20 min	Después adm. 20-30 min
<u>NSG</u>	61,5 ± 22,9	67,9 ± 17,7	72,2 ± 26,2	65,7 ± 18,3	55,4 ± 17,9
Oxitocina	56,9 ± 21,6	84,7 ± 22,0	118,8 ± 77,6	129,6 ± 97,3	111,2 ± 86,5
<u>Oxitocina+CCP</u>					
5,4 mg/ml	62,4 ± 11,3	111,7 ± 39,0	48,7 ± 12,6	6,2 ± 12,8*	21,5 ± 16,2*
2,7 mg/ml	71,0 ± 27,5	124,3 ± 48,8	84,7 ± 23,7	90,6 ± 32,2	75,9 ± 22,7
1,3 mg/ml	79,3 ± 34,4	157,6 ± 61,1	112,3 ± 18,4	119,9 ± 30,1	111,3 ± 12,6
0,6 mg/ml	79,1 ± 29,3	127,3 ± 92,8	122,9 ± 92,9	123,2 ± 115,0	113,7 ± 103,1

*p<0,05 (comparar con el grupo de oxitocina)

15 Tabla 17a. Influencia del extracto de CCP en la actividad de contracción del músculo liso uterino inducida por oxitocina (% de control)

Grupo	Oxitocina	Después adm. 1-10 min	Después adm. 10-20 min	Después adm. 20-30 min
<u>NSG</u>	-10,4	-17,4	-6,8	9,9
Oxitocina	-48,9	-108,8	-127,8	-95,4
<u>Oxitocina+CCP</u>				
5,4 mg/ml	-79,0	22,0	42,0	65,5
2,7 mg/ml	-75,1	-19,3	-27,6	-6,9
1,3 mg/ml	-98,7	-41,6	-51,2	-40,1
0,6 mg/ml	-60,9	-55,4	-55,8	-43,7

Tabla 17b. Influencia del extracto de CCP en la actividad de contracción del músculo liso uterino inducida por oxitocina

Concentración (mg/ml)	Tasa de control (%)
3	9,06 ± 5,78
5,6	32,39 ± 9,15
10	53,63 ± 20,78
17,78	85,63 ± 5,91
30	96,01 ± 2,8

5 El resultado mostró que después de la administración de 5,4 mg/ml de extracto de CCP durante diez minutos, su efecto produjo una reducción de la frecuencia de las contracciones del músculo liso uterino.

Prueba de analgesia

10 Experimento de retorcimiento con ácido acético

La CCP se usa en su mayor parte para tratar la dismenorrea, y para liberar el músculo liso del útero. Con el fin de probar los efectos curativos que tiene el fármaco en el tratamiento de dismenorrea, se ha hecho una investigación de acuerdo con los requisitos de la investigación de la farmacodinámica principal de la Medicina Tradicional China establecidos en el "Nuevo Directorio de Investigación de la Medicina Tradicional China".

Materiales

Animal: Se usan tanto ratones hembras como macho, de 18 g a 23 g de peso. El Centro de Animales de Experimentación del Nanking Railway Medical Institute se hizo cargo de proporcionar los animales para este experimento. Las ratas tuvieron acceso a comida, agua y la luz solar una semana completa una semana completa antes del experimento.

Medicinas: Extracto de Cápsula de Cinnamomi y Poria (1 g de producto de CCP corresponde a 4 g del extracto). Este extracto se proporciona por Lianyungang Kanion Pharmaceutical Co. Ltd (lote N°: 990515).

Ácido acetilsalicílico, 25 mg/comprimido, producido por Nanjing Hengsheng Pharmaceutical Co. Ltd.

Ácido acético glacial (CH₃COOH), la concentración es del 99,0%, producido por Nanjing Chemical Reagent Factory.

Procedimientos

De forma aleatoria se dividen los animales en 5 grupos. Cada grupo tiene doce ratas (7 hembras, 5 machos). A los grupos A, B y C se les administran 0,18 g/kg, 0,63 g/kg y 1,26 g/kg de extracto de CCP respectivamente, una vez al día durante tres días consecutivos. Al grupo D se le administra la solución salina normal a 0,2 ml por ratón una vez al día durante tres días consecutivos. Al grupo E se le administran 0,2 g/kg de ácido acético glacial (Aspirina) una vez al día durante tres días consecutivos. El volumen de la solución es 0,2 ml/cada vez. Después de haber administrado el fármaco el tercer día, a los ratones de los grupos se les inyecta en la cavidad abdominal ácido acético al 0,5%. Se observa y se registran las veces que los ratones se retuercen en 30 minutos.

$$\text{Porcentaje de control} = \frac{\text{Veces que se retuerce el NSG} - \text{Veces que se retuerce el CCPG}}{\text{Veces que se retuerce el NSG}} \times 100$$

Todos los datos se muestran con una media ± desviación estándar (X ± SD). Se examina la diferencia significativa entre los grupos que usan el ensayo t.

45 Resultados experimentales

El efecto de la inyección en la cavidad abdominal de ácido acético puede dar como resultado una reacción corporal típica en respuesta al estímulo. Principalmente, parece ser un retorcimiento de los cuerpos de los ratones que incluye una extensión en aumento en las patas traseras y la cadera, hundimiento del vientre y flexión lateral lumbar. Tanto los grupos de aspirina como el grupo de CCP redujeron las veces que se retorcían en diferente medida. Surge una diferencia obvia si se compara con el grupo de control de una solución salina normal. Los resultados se muestran en la Tabla 14.

Tabla 18a. Influencia del extracto de CCP en las respuestas de retorcimiento de los ratones inducidas por ácido acético al 0,5% (veces)

Grupo y dosis	Animal N°	Veces de retorcimiento (0~30 min)	Control (%)
NS 0,20 ml/ratón	12	38,8 ± 17,2	
CCP 0,18 g/kg	12	29,6 ± 14,7	23,7
CCP 0,63 g/kg	12	20,5 ± 15,0*	47,2
CCP 1,26 g/kg	12	16,7 ± 13,6**	57,0
CCP 0,20 g/kg	12	15,1 ± 17,1**	61,1

*p<0,05, **p<0,01 (comparar con NSG)

5 Tabla 18b. Influencia del extracto de CCP en las respuestas de retorcimiento de los ratones inducidas por ácido acético (veces)

Fármaco	Dosis (g/kg)	N° de animal	Adm.	Veces de retorcimiento 0-10	Veces de retorcimiento 10-20	Veces de retorcimiento 20-30
Control	-	10	P.O	22,7 ± 4,4	23,6 ± 6,6	46,3 ± 7,3
CCP	2,5	10	P.O	19,3 ± 2,5*	19,1 ± 6,6	38,9 ± 5,1*
CCP	5,0	10	P.O	14,0 ± 6,0*	12,9 ± 6,6**	26,9 ± 11,7
CCP	10,0	10	P.O	10,8 ± 6,6***	9,6 ± 7,3***	9,1 ± 14,5
CCP	0,1	10	P.O			2,8 ± 1,4

*p<0,05. **p<0,01 (comparar con NSG)

Prueba de retorcimiento de la cola de los ratones

10

Materiales

Animal: Se producen tanto ratones hembras como macho Kunming, de 18 g-23 g de peso corporal. Los ratones se suministraron por el Centro de Animales de Experimentación del Nanjing Railway Medical Institute (Certificado N° Sudongzhizi-97002 y Sudonghuanzi-97003). Las ratas tienen acceso a comida, agua y la luz solar una semana completa antes del experimento.

15

Medicinas:

20 Extracto de Cápsula de Cinnamomi y Poria (1 g de extracto corresponde a 4 g del fármaco en bruto). La cápsula se proporciona por Lianyungang Kanion Pharmaceutical Co. Ltd (lote N°: 990515).

Procedimientos

25 De forma aleatoria, los animales se dividen en 4 grupos. Cada grupo tiene 10 ratas (cinco hembras, cinco machos). A los grupos A, B y C se les administra una dosis de 0,18 g/kg, 0,63 g/kg y 1,26 g/kg de extracto de CCP respectivamente. Al grupo D se le administra solución salina normal a 0,2 ml por ratón. El volumen de la solución es 0,2 ml/cada vez. Se sumerge un tercio de las colas de los ratones en agua a 55 °C. Se registra las veces que se retuercen las colas de los ratones antes de la administración del fármaco. Después, se administra el fármaco a

30 diferentes dosificaciones a los cuatro grupos y se comprueba las veces que retuercen las colas los ratones bajo los efectos de los fármacos. Se registra el número de veces durante una, dos y cuatro horas después de la administración del fármaco.

$$\text{Control (\%)} = \frac{\text{Tiempo de latencia del retorcimiento de la cola de CCP} - \text{Tiempo de latencia del retorcimiento de la cola de NSG}}{\text{Tiempo de latencia del retorcimiento de la cola de CCP}} \times 100$$

35 Todos los datos se muestran con la media ± desviación estándar (X ± SD). Se examina la diferencia significativa entre los grupos usando el ensayo t.

Tabla 19a. Influencia de CCP en el tiempo de latencia de retorcimiento de la cola de los ratones

Grupo y dosis	Antes adm.	Después adm. 60 min	Después adm. 120 min	Después adm. 240 min
Solución salina normal	1,66 ± 0,46	1,56 ± 0,51	1,62 ± 0,46	1,65 ± 0,36
0,18 g/kg	1,63 ± 0,42	1,73 ± 0,48 (5,8)	1,83 ± 0,49 (10,9)	1,83 ± 0,52 (10,9)
0,63 g/kg	1,64 ± 0,34	2,18 ± 0,50* _{ΔΔ} (24,8)	1,97 ± 0,50 _Δ (16,8)	10 ± 0,56 _{ΔΔ} (21,9)
1,26 g/kg	1,58 ± 0,28	2,40 ± 0,61** _{ΔΔΔ} (34,2)	2,34 ± 0,68** _{ΔΔΔ} (32,5)	2,54 ± 0,69** _{ΔΔΔ} (37,8)

p<0,05 **p<0,01 (comparar con antes de la administración)
_Δp<0,05 _{ΔΔ}p<0,01 _{ΔΔΔ}p<0,001 (comparar con grupo de control)

Tabla 19b. Influencia de CCP en el tiempo de latencia de retorcimiento de la cola de los ratones

Fármaco	Dosis (g/kg)	Adm.	Antes adm.	Después adm. 60 min	Después adm. 120 min	Después adm. 240 min
Ctrl.	-	0	1,58 ± 0,43	1,49 ± 0,4	1,57 ± 0,38	1,54 ± 0,41
CCP	5	10	1,56 ± 0,40	1,71 ± 0,37	1,91 ± 0,58	1,89 ± 0,66
CCP	10	10	1,55 ± 0,46	2,21 ± 0,93*	2,42 ± 0,95**	2,70 ± 0,92***
CCP	20	10	1,50 ± 0,47	2,57 ± 0,95**	2,61 ± 1,27	2,50 ± 0,43***
XYT	0,01	10	1,58 ± 0,79	2,23 ± 0,53*	2,56 ± 0,40	1,52 ± 0,56

*p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001

Los resultados de los experimentos mostraron que un extracto de 0,63 g/kg, 1,26-g/kg de CCP puede prolongar obviamente las veces que el ratón retuerce la cola. Las diferencias fueron notables cuando los resultados se compararon con los del grupo de control de una solución salina normal.

5

Conclusión

El experimento sobre la influencia del extracto de CCP en las veces que los ratones se retuercen mostró que 0,18 g/kg de extracto de CCP eran eficaces en la reducción del intervalo de veces del retorcimiento de los ratones. Cuando más se aumentaba la dosis (0,63 g/kg, 1,26 g/kg), más disminuía el número de veces que los ratones se retorcían. Las tasas de control son respectivamente el 23,7%, 47,2% y el 56,9% durante 1 a 30 minutos. Existe una diferencia significativa con el grupo de control de una solución salina normal. La tasa de control del grupo de control positivo-Aspirina es del 61,08%. Ya que 0,63 g/kg, 1,26 g/kg de extracto de CCP pueden prolongar obviamente las veces que el ratón se retuerce. Los resultados demuestran que la CCP tiene fuertes efectos analgésicos en ratas vivas.

10

Disminución de la Viscosidad de Sangre Completa

Materiales

25 Animal: Ratas Wister macho.

Medicinas:

Extracto de CCP (1 g de extracto corresponde a 4 g de fármacos en bruto) proporcionado por Lianyungang Kanion
 30 Pharmaceutical Co. Ltd. (lote N°: 990515).

Persantina, producida por Harbin White Swan Pharmaceutical Factory (lote N°: 8905010).

Heparina, producida por Suzhou Xinbao Pharmaceutical Factory (lote N°: 881105).

35

Equipo: Viscosímetro para sangre Tipo XN-5

Procedimientos

40 Administración del fármaco: Se ponen 12,5 g de extracto de CCP en 100 ml de solución salina normal y se mezclan adecuadamente. La concentración del fármaco es 0,125 g/ml (que contiene 0,5 g/ml de fármacos en bruto). Se ponen 25 g de extracto de CCP en 100 ml de una solución salina normal. La concentración del fármaco es 0,25 g/ml (que contiene 0,1 g/ml de fármacos en bruto). Se ponen 50 g de extracto de CCP en 100 ml de solución salina normal y se mezclan adecuadamente. La concentración del fármaco es 0,5 g/ml (que contiene 2 g/ml de fármacos
 45 en bruto).

Persantina: Se ponen 2 g en solución salina normal y se mezclan adecuadamente. La concentración del fármaco será de 20 mg/ml.

Procedimiento experimental: De forma aleatoria, las ratas Wister macho, de 250 a 300 g de peso, se dividen en cinco grupos, con ocho ratas en cada grupo. Los grupos de dosis baja, media y alta pueden tomar el extracto de CCP en una concentración de 10 ml/kg. La concentración de los fármacos en bruto es de 5 g/kg, 10,0 g/kg y 20 g/kg respectivamente. El grupo de control toma solución salina normal del mismo volumen; el grupo de medicina positiva toma 0,2 g/kg, que son 10 ml/kg de persantina. El fármaco debe administrarse una vez al día durante cinco días consecutivos. Después de una hora y media de la administración del fármaco el quinto día, los ratones se anestesian ligeramente con éter. Se registran 40 tubos de ensayo, y se pone 0,1 ml de heparina en cada uno. Se toman muestras de sangre de la aorta abdominal de los ratones y se llena cada uno con 1 ml de sangre. Después, se usa un viscosímetro de sangre Tipo XN-5 para determinar la Viscosidad en Proporción de la Sangre Completa.

Procesamiento de datos: Todos los datos se muestran con la media \pm desviación estándar ($X \pm SD$), en el ensayo t.

Resultados

La influencia de la CCP sobre la Viscosidad de la Sangre Completa de las ratas mostró que 5 g/kg de extracto de CCP pueden reducir la Viscosidad de la Sangre Completa a una tensión mínima baja de $P < 0,01$, y una tensión máxima alta de $P < 0,05$. La Viscosidad de la Sangre Completa continuó cayendo junto con el aumento de la dosis. La CCP puede reducir claramente la Viscosidad en Proporción de la Sangre Completa de las ratas (véase la Tabla 16).

Tabla 20. Influencia de CCP en la proporción de viscosidad en sangre completa de las ratas

Medicina	Dosis (g/kg)	Animal N°	Proporción de viscosidad en sangre completa	
			baja tensión	alta tensión
Solución salina normal	0	8	29,85 \pm 9,33	12,10 \pm 1,90
CCP	5,0	8	17,98 \pm 4,78**	9,66 \pm 1,47*
	10,0	8	16,69 \pm 4,86**	8,49 \pm 1,81**
	20,0	8	15,36 \pm 4,38**	5,60 \pm 2,15**
	Persantina	0,2	8	16,12 \pm 6,92**

Nota: Comparar con el grupo de control de solución salina, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$

25 Análisis

La Viscosidad en Proporción de la Sangre Completa es un índice que mide la viscosidad de la sangre. Siempre está relacionado con la cantidad y la calidad del corpúsculo sanguíneo, el colesterol en plasma, y la concentración de fibrina macromolecular. La Viscosidad en Proporción de la Sangre Completa es la relación de la Viscosidad de la Sangre Completa y la viscosidad acuosa. Cuantos más corpúsculos sanguíneos se encuentren, más alta se volverá la Viscosidad de la Sangre Completa. El aumento de la Viscosidad en Proporción de la Sangre Completa cambia el flujo sanguíneo en su conjunto, incluyendo el cambio de componentes solubles corpóreos en sangre. Esta reacción se ve más afectada por los RBC. Cuando los RBC se agregan y aglomeran, la viscosidad sanguínea aumenta, creando una gran resistencia al flujo sanguíneo, una condición de la sangre de alta viscosidad denominada "anormalidad hematogena". Ya que la CCP reduce la viscosidad sanguínea, se usa para evitar y curar estancamiento sanguíneo. La Viscosidad de la Sangre Completa refleja los cambios del flujo sanguíneo como un conjunto. Por lo tanto, la CCP puede tratar y mejorar los síntomas del estancamiento sanguíneo.

Experimentos acerca de la agregación plaquetaria extra-corpórea de conejo

40 Materiales

Animal: Se usan conejos vivos que pesan 2,5 kg.

45 Medicinas:

Extracto de Cinnamomi y Poria (1 g de extracto corresponde a 4 g del fármaco en bruto). El extracto se suministra por Lian-yungang Kanion Pharmaceutical Co. Ltd. (N° 892011).

50 Bolo de Cinnamomi y Poria (1 g de Bolo corresponde a 4 g del fármaco en brutos). El fármaco se suministra por Shanxi Changling Medicina Tradicional China Factory (N° 900111).

Aspirina, producida por Shanghai Jiufu Pharmaceutical Company (N° 900111).

55 Instrumento: Instrumento de Agregación Plaquetaria Tipo SPA.

Preparación del ensayo

- Preparación del fármaco: Se ponen 3,13 g de extracto de CCP en 100 ml de una solución salina normal. La concentración del fármaco es de 31,3 mg/ml (contiene 125 mg/ml de fármaco en bruto). Se toma 1 ml de esta solución, se pone en 9 ml de solución salina normal y se mezcla adecuadamente. La concentración del fármaco es de 3,13 mg/ml (contiene 12,5 mg/ml de fármaco en bruto). Se ponen 2 ml de la solución que se ha preparado previamente, que contiene la CCP, en 8 ml de solución salina normal y se mezcla adecuadamente. La concentración del fármaco es de 6,26 mg/ml (contiene 25 mg/ml de fármaco en bruto). Se ponen 3 ml de la solución hecha con la CCP en 7 ml de solución salina normal y se mezcla adecuadamente. La concentración del fármaco es de 9,39 mg/ml (contiene 37,5 mg/ml de fármaco en bruto). Se ponen 4 ml de la solución hecha con la CCP en 6 ml de solución salina normal y se mezcla adecuadamente. La concentración del fármaco es 12,5 mg/ml (contiene 50 mg/ml de fármaco en bruto). Se ponen 6 ml de la solución hecha con la CCP en 4 ml de solución salina normal y se mezcla adecuadamente. La concentración del fármaco es 18,78 mg/ml (contiene 75 mg/ml de fármaco en bruto).
- 15 Se ponen a 1,5 g de Bolo de Cinnamomi y Poria en 100 ml de solución salina normal y se mezcla adecuadamente. Esta solución contiene 60 mg/ml de fármaco en bruto. Se toman 3 ml de esta solución, se ponen en 7 ml de solución salina normal y se mezclan adecuadamente. La solución contiene 18 mg/ml de fármaco en bruto. Después, se pone en 6 ml de la solución que contiene el PCP en 4 ml de solución salina normal y se mezcla adecuadamente. Esta solución contiene 36 mg/ml de fármaco en bruto. Se ponen 9 ml de la solución que contiene el PCP en 1 ml de una solución salina normal. La solución contiene 54 mg/ml de fármaco en bruto. Se ponen 0,3 g de aspirina en 1000 ml de solución salina normal y se mezcla adecuadamente. La solución contiene 0,3 mg/ml de fármaco en bruto.

Procedimientos

- 25 a) Se pone 0,1 ml de citrato sódico al 3,13% en 65 tubos.
- b) Se intuba y se muestrea la sangre de los conejos tomada de la arteria carótida común mientras que los animales están despiertos. Cada tubo debe tener 0,9 ml de sangre. La relación entre sangre completa y anticoagulante es de 9:1. Se centrifugan a 1000 rpm durante siete minutos y se prepara PRP. Después de la succión de PRP, se centrifugan durante 10 min a 3000 rpm para preparar PPP. De acuerdo con el método de Born, se usa el instrumento de agregación plaquetaria PPP de Tipo SPA-III para el ensayo. Se observan diferentes concentraciones de CCP: 12,5 mg/ml, 25 mg/ml, 37,5 mg/ml, 50 mg/ml y 75 mg/ml. También se observan diferentes concentraciones de PCP: 18 mg/ml, 30 mg/ml, 36 mg/ml y 54 mg/ml. Se prepara PRP usando incubación durante 10 min. Se administra la solución salina normal del mismo volumen al grupo de control. Se administra la aspirina al grupo de control positivo. La concentración de ADP será de μm .

Procesamiento de datos

$$\% \text{ de control} = \frac{\text{Relación de la agregación plaquetaria antes de la administración} - \text{Relación agregación plaquetaria después de la administración}}{\text{Relación agregación plaquetaria antes de la administración}}$$

- 40 Todos los datos se muestran con la media \pm desviación estándar ($X \pm SD$). Todos los datos entre los grupos y con cada grupo se examinan usando el valor t con el fin de observar cualquier diferencia significativa. Los resultados experimentales se muestran en la Tabla 17.

Tabla 21. Influencia de CCP en la agregación plaquetaria extra-corporal de conejos

Fármacos	Concentración (mg/ml)	Muestra N°	Agregación (%)	Control (%)
NS	0	5	67,95 \pm 19,32	
CCP	12,5	5	51,32 \pm 11,78**	27,47 \pm 7,76
	25	5	39,60 \pm 12,23**	41,72 \pm 7,96
	37,5	5	25,56 \pm 9,95***	62,30 \pm 6,54
	50	5	13,74 \pm 5,32***	79,78 \pm 3,50
	75	5	3,18 \pm 2,21***	95,33 \pm 1,46
Aspirina	0,3	5	32,94 \pm 1,68**	
NS	0	5	66,17 \pm 1,07	
BP	18	5	57,83 \pm 4,83*	32,60 \pm 7,305
	30	5	34,50 \pm 6,78**	7,86 \pm 10,25
	36	5	29,34 \pm 7,34**	55,67 \pm 11,09
	54	5	4,50 \pm 0,79***	93,20 \pm 1,19

*p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001 (comparar con NSG)

Experimentos de agregación plaquetaria en ratas

Materiales

5 Animal: Ratas Wister macho con peso de entre 250 a 300 mg. Las ratas tienen acceso a comida, agua y la luz solar una semana completa antes del experimento.

Medicinas:

10 Extracto de Cápsula de Cinnamomi y Poria (1 g de extracto corresponde a 4 g del fármaco en bruto), se proporciona por Lianyungang Kanion Pharmaceutical Co.Ltd, Lote N° 891011.
Aspirina, suministrada por Shanghai Jiufu Pharmaceutical Co., Lote N° 900111.

Instrumento: Instrumento de agregación plaquetaria de Tipo SPA-III.

15

Procedimiento

Preparación del fármaco: Se ponen 12,5 g de extracto de CCP en 100 ml de una solución salina normal y se mezcla adecuadamente. La concentración del fármaco es 0,5 mg/ml. Se ponen 25 g de extracto en 100 ml de una solución salina normal y se mezcla adecuadamente. La concentración del fármaco es 1 g/ml. Se ponen 50 g de extracto de CCP en 100 ml de una solución salina normal y se mezcla adecuadamente. La concentración del fármaco es 1 g/ml.

Procedimiento experimental: De forma aleatoria, 34 ratas macho Wister se dividen en cinco grupos, y respectivamente se les administra respectivamente las siguientes dosis de CCP: 5 g/kg, 10 g/kg, 20 g/kg. Se administran 10 ml/kg de solución salina normal del mismo volumen al grupo de control, una vez al día durante cinco días consecutivos. Media hora después de la administración del fármaco el quinto día, se usa éter para anestesiarse las ratas. Se usa un total de 34 tubos y se vierte 0,1 ml de citrato sódico al 3,13% en cada tubo para evitar que la sangre se coagule. Se administra 0,1 g/kg de aspirina una vez al grupo de control positivo. Se prepara plasma plaquetario de acuerdo con el procedimiento que se ha explicado previamente. Se realizan experimentos de agregación y se registran las condiciones de cada grupo.

Procesamiento de datos: Todos los datos se muestran con la media \pm desviación estándar ($X \pm SD$). Todos los datos entre los grupos y en cada grupo se examinan usando el valor t con el fin de observar cualquier diferencia significativa. Los resultados experimentales se muestran en la Tabla 18.

35

Tabla 22. Influencia de CCP a la agregación plaquetaria de las ratas

Medicina	Dosis (g/kg)	Animal N°	($X \pm DT$) Proporción de agregación
NS	0	7	65,33 \pm 11,05
CCP	5,0	7	56,19 \pm 7,70
	10,0	7	51,78 \pm 9,68**
	20	7	44,86 \pm 7,99**
Aspirina	0,1	6	26,58 \pm 10,58**

*p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001 (comparar con solución salina normal)

Los experimentos sobre la agregación plaquetaria extracorpórea de conejos hace posible observar que usando 12,5 mg/ml de extracto del fármaco en bruto de CCP hay una reducción significativa de la relación de la agregación plaquetaria ($P < 0,05$). Cuando más alta es la concentración (por ejemplo, 37,5 mg/ml, 50 mg/ml, 75 mg/ml) más cae la relación de la agregación plaquetaria. En experimentos acerca de la agregación plaquetaria extracorpórea de ratas, el extracto de CCP puede reducir obviamente la relación de la agregación plaquetaria cuando la dosis varía de 10 g/kg a 20 g/kg. Cuando mayor es la dosis, más fuerte es el efecto. Los resultados mostraron que la CCP puede controlar la tasa de agregación plaquetaria sanguínea inducida por ADP.

Análisis

Las reacciones de adhesión, agregación y exérgicas de las plaquetas con las funciones básicas en condiciones fisiológicas. También es un factor la trombosis en condiciones patológicas.

Un procedimiento importante para el tratamiento de estancamiento sanguíneo es controlar la agregación plaquetaria y reducir la viscosidad sanguínea con el fin de mejorar la circulación sanguínea. Éste es básicamente un procedimiento para activar la circulación sanguínea en un intento de disipar el estancamiento sanguíneo.

55

ADP da como resultado la agregación sanguínea por el receptor de ADP. Los resultados obtenidos a partir de los experimentos mostraron que la CCP puede controlar la agregación plaquetaria inducida por ADP. Los resultados también indicaron la existencia de una relación dosis-efecto.

- 5 Después de administrar la CCP, hay un alto nivel de control de la agregación plaquetaria, que está inducida por el ADP. Este procedimiento mostró que la CCP tiene propiedades que activan la circulación sanguínea con el fin de disipar el estancamiento sanguíneo.

Efecto antiinflamatorio

10

Material

Animal: Ratones Kunming, proporcionados por el Experimental Animal Room de nuestra institución.

15 Medicinas:

Extracto de CCP, proporcionado por Lianyungang Kanion Pharmaceutical Co. Ltd., Lote N° 891011 (1 g de extracto corresponde a 4 g de fármaco en bruto).

20 Bolo de Cinnamomi y Poria: producido por Shanxi Changzhi Chinese Tradition Medicine Factory (1 g de extracto corresponde a 4 g de fármaco en bruto), Lote N° 900407.

Hidrocortisona, producida por Harbin Third Pharmaceutical Factory, Lote N° 900407.

Instrumento: Máquina de estiletes; Balance de torsión.

25

Procedimientos

Preparación del fármaco: Se ponen 12,5 g de extracto de CCP en 100 ml de una solución salina normal, y se mezclan adecuadamente. La concentración del fármaco es 0,5 mg/ml. Se ponen 25 g de extracto de CCP en 100 ml de una solución salina normal, y se mezclan adecuadamente. La concentración del fármaco es 1 g/ml. Se ponen 50 g de extracto de CCP en 100 ml de una solución salina normal, y se mezclan adecuadamente. La concentración del fármaco es de 2 g/ml. Se ponen 12,5 g del Bolo de Cinnamomi y Poria en 100 ml de una solución salina normal, y se mezclan adecuadamente. La concentración del fármaco es 0,5 mg/ml. Se ponen 25 g de extracto en 100 ml de una solución salina normal, y se mezclan adecuadamente. La concentración del fármaco es 1 g/ml. Se ponen 50 g de extracto en 100 ml de una solución salina normal, y se mezclan adecuadamente. La concentración del fármaco es de 2 g/ml. Se pone 0,1 g de hidrocortisona en 100 ml de una solución salina normal. La concentración del fármaco es 1 mg/ml. Se administran las tres preparaciones (un total de siete soluciones diferentes) con 10 ml/kg.

Procedimiento experimental: De acuerdo con su peso, de forma aleatoria, cincuenta ratones macho se dividieron en ocho grupos. Se administran diferentes dosis de siete soluciones que se han mencionado anteriormente durante tres días y para el grupo de control se administra la solución salina normal del mismo volumen. Después de tres días de la administración del fármaco, se untan 0,5 ml de aceite de crotón sobre ambos lados de cada oreja izquierda de los ratones (comparar con la oreja derecha). Dos horas después de la administración del fármaco, se sacrifican los animales y se perforan orificios en la misma ubicación sobre sus orejas con una máquina de estiletes de 9 mm, después las orejas de los ratones se pesan con balance de torsión.

Grado de hinchazón = peso de la oreja izquierda - peso de la oreja derecha.

50 Todos los datos se muestran con la media \pm desviación estándar ($X \pm SD$). Los datos entre los grupos y en cada grupo se examinan usando el valor t con el fin de observar cualquier diferencia significativa.

Resultados

55 Los resultados experimentales mostraron que 10 g/kg de CCP pueden reducir el grado de hinchazón de las orejas ($p < 0,01$). Se ha demostrado que un aumento de la dosis produce una reducción de la hinchazón. El grado de hinchazón de la oreja del grupo con una dosificación de 20 g/kg del extracto de CCP es $5,92 \pm 3,11$. Se observaron diferencias significativas entre la CCP en comparación con el grupo de control de solución salina normal ($p < 0,001$).

Tabla 23. Influencia del CCP en inflamación del oído del ratón

Grupo	Dosis (g/kg)	Animal N°	Grado de inflamación del oído
Control	0	10	18,36 ± 7,09
CCP	5	10	17,75 ± 9,81
	10	10	9,05 ± 5,92**
	20	10	5,92 ± 3,11**
BCP	5	10	17,85 ± 3,06
	10	10	10,90 ± 2,93
	20	10	8,17 ± 5,91**
Hidrocortisona	0,025	10	4,68 ± 3,43***

Análisis

5

Los agentes inflamatorios pueden penetrar a través de la piel causando graves daños a la oreja. Los resultados de este experimento determinaron que 10-20 g/kg de extracto de CCP pueden reducir la hinchazón inducida por un agente inflamatorio. Cuando mayor es la dosis de extracto de la CCP, más fuerte es el efecto. La información indicada a partir de la investigación previa valida el hecho de que la CCP tiene características antiinflamatorias.

10

Conclusión

El extracto de CCP puede controlar la frecuencia de la contracción, el intervalo y la actividad del músculo liso uterino extracorpóreo. También puede reducir la frecuencia de contracción de las ratas y las actividades del músculo liso uterino inducidas por la oxitocina. Los experimentos demostraron que 0,18 g/kg de extracto de CCP pueden disminuir las veces que se retuercen los ratones. Examinando la Viscosidad en Proporción de la Sangre Completa de ratas, se observa que 5,0 g/kg de fármaco en bruto de CCP pueden reducir la Viscosidad en Proporción de la Sangre Completa. A través de este experimento es notable la diferencia existente con el grupo de control de solución salina normal (baja tensión $P < 0,01$, alta tensión $P < 0,05$). Los experimentos indicaron que la CCP obviamente puede reducir la Viscosidad en Proporción de la Sangre Completa.

Los resultados mostraron que a 12,5 mg/ml de fármaco en bruto de CCP pueden reducir la tasa de agregación plaquetaria. La tasa de agregación plaquetaria puede reducirse si la dosis de CCP se aumenta (por ejemplo, 37,5 mg/ml, 50 mg/ml, 75 mg/ml). Con respecto a los resultados obtenidos a partir del experimento que implica la agregación plaquetaria, se demostró que 10 g/kg de extracto de CCP pueden reducir la relación de la agregación plaquetaria. Los resultados indicaron que 10 g/kg de extracto de CCP pueden reducir la hinchazón auricular ($P < 0,01$) demostrando el fuerte efecto antiinflamatorio de la CCP.

Estudios farmacológicos generales en la Cápsula de Cinnamomi y Poria (CCP)

30

De acuerdo con el principio de la guía Nacional para el estudio pre-clínico del nuevo fármaco. Los experimentos se realizaron para evaluar el efecto de la Cápsula de Cinnamomi y Poria (CCP) sobre los sistemas mental y nervioso, cardiovascular y respiratorio de las ratas. Los resultados indicaron que no hubo efectos significativos sobre las funciones de los sistemas después de que los animales se trataran con CCP a dosis de 250 mg/kg/día y 500 mg/kg/día durante 5 días.

Materiales

La Cápsula de Cinnamomi y Poria (CCP) se proporcionó por Lianyungang Kanion Pharmaceutical Co. Ltd. El número de lote es 0002145 (la fecha con la mezcla de pan: 30 de marzo de 2000).

Se proporcionaron ratas Wistar por Nanjing Military Area Major Hospital Experiment Animal Center (NMAAMH-EAC), certificado número Su-Dong(Zhi) 97001. Los animales se criaron en el animalario después de su adquisición con temperaturas que variaban de 18-24 °C, la exposición a la luz fue de aproximadamente 12 horas. La comida para los animales era la comida granular para ratas proporcionada por NMAAMH-EAC. El experimento se inicia después de 2 semanas de la cría.

Equipos: Tonotransductor JZ-1, proporcionado por Beijing Chenyung electrotechnical Institute; transductor a presión CY-BK, proporcionado por BeKo Measure Control L.T.Co.; Sistema multimedia de señal analítica biológica Ms 322, proporcionado por Guozhuo Pharmaceutical College. Los datos se trataron con un ordenador Pentium II 300. La velocidad del registro fue de 0,2 s/cm y las sumas fueron: ECG 1 mv/cm, BP 8 mv/cm, respiratoria 8 mv/cm, y todos los resultados se expresaron como la media ± D.T., y el análisis se realizó por el ensayo t de Student.

Procedimientos

30 ratas adultas se dividieron de forma aleatoria en 3 grupos, que contenía cada uno 10 ratas, iguales de ambos géneros. La CCP se proporcionó por sonda gástrica a las ratas en una dosis de 250 mg/kg o 500 mg/kg durante 5 días. Al otro grupo se le proporcionó solución salina como control.

Observación del Sistema Nervioso: Observar el aspecto general, comportamientos, posturas y el modo de caminar de los animales antes y después del tratamiento. Prestar atención a síntomas, tales como salivación, temblor muscular o cambios en la pupilar ocular.

10

Observación del Sistema Cardiovascular: Las ratas se anestesiaron antes y después de la administración y se registró su presión arterial (PA), electrocardiograma (ECG) en la derivación II para las ratas y el ritmo cardíaco.

Observación del Sistema Respiratorio: Los animales estaban anestesiados y con una cánula traqueal y se conectó al MBSAR para medir el cambio en la frecuencia respiratoria.

15

Resultados:

Los efectos de la CCP sobre el sistema nervioso: Los experimentos mostraron que no hubo cambios significativos antes y 1-56 horas después del tratamiento para dichos aspectos, como apariencia, pelo, comportamiento general (apetito y sueño), postura y modo de caminar. La CCP tampoco mostró efecto en la salivación, temblor muscular ni cambio en la pupilar ocular.

20

El efecto de la CCP sobre el sistema cardiovascular y respiratorio: El experimento mostró que no hubo cambios en la tensión arterial, el ECG, el ritmo cardíaco ni la frecuencia respiratoria entre el grupo de control y los grupos experimentales.

25

Tabla 24. El efecto de la CCP en el ritmo cardíaco de las ratas (veces/min)

Control	250 g/kg	500 g/kg
322,8 ± 76,0	355,0 ± 67,3	387,9 ± 63,8

30

Tabla 25. El efecto de la CCP en BP de ratas

Control	250 g/kg	500 g/kg
19,6 ± 4,2	21,2 ± 7,2	17,8 ± 6,1

Tabla 26. El efecto de la CCP en la frecuencia respiratoria de las ratas (tiempo/min)

35

Control	250 g/kg BW	500 g/kg BW
83,1 ± 29,1	80,2 ± 18,3	76,2 ± 17,8

Conclusión

Este experimento mostró que la CCP no tenía efecto sobre los sistemas, mental, nervioso, respiratorio y cardiovascular en ratas que estaban con dosificaciones de 250 mg/kg y 500 mg/kg durante el experimento de 5 días.

40

Estudio de toxicidad aguda de la CCP

A 20 ratones de 18~22 gramos de peso corporal, igual en número de ambos géneros, se les proporcionó una solución de CCP por sonda gástrica de 0,8 ml dos veces al día (246 g/kg·día) durante 7 días. Se observaron y se anotaron el efecto tóxico, los síntomas anormales y las muertes durante 7 días. Los animales estaban decaídos y menos activos, pero no pudo observarse ninguna reacción obvia ni la muerte cuando la dosificación del fármaco se elevó hasta 246 g/kg, unas moles de veces más que la dosificación humana de 10 g al día.

45

50 Estudio de toxicidad a largo plazo de la CCP

De acuerdo con el principio de la guía Nacional del estudio pre-clínico para un nuevo fármaco. Es necesario un estudio de toxicidad crónica sobre la CCP. El resultado de este estudio fue negativo e indicó que no había ningún efecto inverso que actuase sobre los órganos funcionales y estructurales internos de las ratas después de tratarse con CCT a dosis de 250 mg/kg/d, 500 mg/kg/d y 1000 mg/kg/d durante un periodo de 3 meses.

55

Materiales

La Cápsula de Cinnamomi y Poria (CCP) se proporcionó por Lianyungang Kanion Pharmaceutical Co. Ltd. El número de lote es 0002145 (la fecha con la mezcla de pan: 30 de marzo de 2000).

5 Se proporcionaron ratas Wistar por Nanjing Military Area Major Hospital Experiment Animal Center (NMAAMH-EAC), certificado número Su-Dong(Zhi) 97001. Los animales se criaron en el animalario después de su adquisición con temperaturas que variaban de 18-24 °C, la exposición a la luz fue de aproximadamente 12 horas. La comida para los animales era la comida granular para ratas proporcionada por NMAAMH-EAC El experimento se inicia después de 2
10 semanas de la cría.

Procedimiento

Las ratas adultas se dividieron de forma aleatoria en 4 grupos, conteniendo cada grupo 20 animales (10 machos y
15 10 hembras). A las ratas se les proporcionó CCP por sonda gástrica a dosis de 250 mg/kg/d, 500 mg/kg/d y 1000 mg/kg/d, 6 días a la semana durante 3 meses. Al otro grupo se le proporcionó solución salina como grupo de control.

Parámetros evaluados

20 Aspecto general, comportamiento, excreciones, apetito y cambios de peso. Después de 24 horas de la última dosis, las ratas se sacrificaron y se observaron los siguientes índices.

1) Hepatología: El recuento de RBC, WBC, plaquetas y hemocromo.

25 2) Parámetros bioquímicos de la sangre: AST, ALT, BUN, TP, ALB, GLU, T-BIL, Crea y T-CHO.

3) Examen histopatológico: Todos los órganos importantes, tales como pituitaria, corazón, hígado, riñón, pulmón, testículos, ovarios, útero, linfa, estómago, tiroides, duodeno, íleo y colon se diseccionaron y se fijaron en una solución de Bouin. Después, los órganos se incrustaron en cera parafina y se seccionaron en serie. Las secciones
30 se tiñeron con tinte H. & E. y se examinaron a la luz del microscopio.

Resultados

No hubo cambios ni ninguna diferencia entre el grupo de control y los grupos de la CCP sobre el aspecto,
35 comportamiento, excreciones, apetito, peso corporal y peso de los órganos de las ratas. A las ratas que se les proporcionó CCP por sonda gástrica a una dosis de 250 mg/kg/d, 500 mg/kg/d y 1000 mg/kg/d durante un periodo de 3 meses no mostraron ningún síntoma de los efectos relacionado con el tratamiento.

Tabla 27. Efecto de la CCP en el peso de los órganos importantes

	Corazón	Pulmón	Riñón	Hígado
Control	0,39 ± 0,04	0,78 ± 0,02	0,95 ± 0,07	4,82 ± 0,26
250 mg	0,37 ± 0,05	0,86 ± 0,07	1,06 ± 0,08	4,92 ± 0,52
500 mg	0,38 ± 0,03	0,79 ± 0,04	1,06 ± 0,08	4,80 ± 0,36
1000 mg	0,45 ± 0,03	0,80 ± 0,05	1,04 ± 0,10	4,70 ± 0,39

40

	Bazo	Útero	Ovario
Control	0,18 ± 0,01	0,17 ± 0,03	0,028 ± 0,004
250 mg	0,16 ± 0,01	0,17 ± 0,02	0,022 ± 0,008
500 mg	0,18 ± 0,01	0,17 ± 0,02	0,028 ± 0,004
1000 mg	0,19 ± 0,02	0,17 ± 0,03	0,028 ± 0,003

No hubo un cambio significativo entre los grupos de control y de CCP en el recuento de RBC, WBC, plaquetas y hemocromo durante 3 meses del experimento. A los grupos de CCP se les proporcionó dosificaciones de
45 250 mg/kg/día, 500 mg/kg/día o 1000 mg/kg/día.

Tabla 28: El efecto de la CCP en los parámetros de la hematología

Grupo	RBC 10 ⁶ /mm ³	WBC 10 ³ /mm ³	Plaqueta 10 ³ /mm ³	Hb g/100 ml
Control	4,49 ± 0,53	15,2 ± 4,6	1170 ± 141	13,1 ± 1,6
250 mg/kg	3,95 ± 0,41	13,6 ± 4,1	1159 ± 156	12,2 ± 1,1
500 mg/kg	4,56 ± 0,51	15,6 ± 5,0	1073 ± 76	13,0 ± 2,0
1000 mg/kg	4,28 ± 0,39	14,7 ± 4,5	1129 ± 137	12,4 ± 2,0

No hubo ningún cambio o diferencia significativo entre los grupos de CCP y el grupo de control en los parámetros de AST, ALT, BUN, Crea, TP, GLU, T_BIL y T-CHO. Se sugirió que la CCP no tenía efectos en la función del hígado, el riñón y el metabolismo de proteínas, carbohidratos y grasas durante los 3 meses del experimento. Las dosificaciones de CCP no se proporcionaron a las ratas fueron 250 mg/kg/d, 500 mg/kg/d y 1000 mg/kg/d.

Tabla 29. El efecto de la CCP en las funciones del hígado y el riñón

Grupo	AST (u)	ALT (u)	BUN (mg/100 ml)	Cr (mg/100 ml)
Control	18,3 ± 8,6	13,8 ± 2,7	39,7 ± 7,6	1,38 ± 0,23
250 mg/kg	18,3 ± 4,2	15,3 ± 5,1	15,3 ± 5,1	1,32 ± 0,25
500 mg/kg	15,4 ± 6,7	17,2 ± 6,0	39,1 ± 8,4	1,38 ± 0,23
1000 mg/kg	17,3 ± 6,6	15,3 ± 4,3	38,6 ± 10,0	1,41 ± 0,21

10 Tabla 30. El efecto de la CCP en el metabolismo de los carbohidratos, proteínas y grasas

Grupo	TP g/100 ml	ALB g/100 ml	GLU mg/100 ml	T-BIL mg/100 ml	T-CHO mg/100 ml
Control	5,96 ± 1,08	4,09 ± 0,82	101,6 ± 12,1	0,37 ± 0,18	113,1 ± 16,9
250 mg/kg	6,28 ± 0,92	4,39 ± 0,86	114,3 ± 12,2	0,39 ± 0,19	117,5 ± 19,9
500 mg/kg	6,35 ± 0,86	4,08 ± 0,87	99,8 ± 13,3	0,38 ± 0,18	127,3 ± 28,6
1000 mg/kg	6,30 ± 0,87	4,22 ± 0,57	99,0 ± 15,4	99,0 ± 15,4	120,5 ± 21,4

Exámenes histopatológicos: Muchos de los órganos importantes, tales como pituitaria, corazón, hígado, riñón, pulmón, testículos, ovarios, útero, linfa, estómago, tiroides, duodeno, ileo y colon se diseccionaron y se fijaron en una solución de Bouin. Después, los órganos se incrustaron en cera parafina y se seccionaron en serie. Las secciones se tiñeron con tinte H. & E. y se examinaron a la luz del microscopio. Los resultados de los tres grupos tratados no mostraron ningún cambio estructural o de otro modo en comparación con el grupo de control.

Conclusión

20 Los resultados indicaron que no hubo efectos significativos sobre las funciones y estructura de todos los órganos examinados, durante el periodo de 3 meses del experimento en el que a las ratas se les proporcionó la dosis de CCP de 250 mg/kg/d, 500 mg/kg/d y 1000 mg/kg/d. En conclusión, el experimento mostró que la CCP era segura de usar.

25 **Efecto sobre el sistema genital de rata hembra joven**

Materiales

30 La Cápsula de Cinnamomi y Poria (CCP) se proporcionó por Lianyungang Kanion Pharmaceutical Co. Ltd. (Lote N° 990515).

Kits de Radio-inmunoensayo para estradiol (Sensibilidad: 4 pg/ml; índice de variación entre lotes: 5,0, en lote: 4,0) y pregnendiona (Sensibilidad: 0,2 ng/ml; índice de variación entre lotes: 7,4, en lote: 5,2), proporcionados por Jiuding Biomedical company Ltd., Tianjin.

30 ratas Wistar hembra, 4 semanas de edad, proporcionadas por Nanjing Military Area Major Hospital Experiment Animal Center (NMAAMH-EAC), certificado número Su-Dong(Zhl) 97001. Los animales se criaron en el animalario de nuestra institución, las temperaturas variaron de 18-24 °C, la exposición a la luz fue de aproximadamente 12 horas. La comida de los animales era la comida de ratas granular convencional proporcionada por NMAAMH-EAC.

Procedimiento

45 De forma aleatoria, 30 ratas se dividieron en grupos de altas y bajas dosis y grupos de control, con 10 ratas en cada grupo. A los tres grupos de ratas se les administró CCP en dosis de 1,500 mg/kg-día, 300 mg/kg-día, o solución salina normal en dosis de 0,4 ml/rata durante 7 días. Los animales se sacrificaron el octavo día, los úteros y los ovarios se pesaron inmediatamente y se tomaron muestras de sangre la aorta abdominal para obtener la concentración de estradiol y pregnendiona en suero.

50 Resultado

Dos animales, uno en el grupo de dosis alta y el otro en el grupo de control murieron una hora después de la infusión gástrica. Se consideró que la muerte fue causada por un funcionamiento inadecuado de la infusión gástrica, ya que

se encontraron algunos fluidos sanguíneos en las bocas de ambas ratas. No se encontraron otros casos anormales en el ensayo durante su crecimiento, acción y reacciones de desarrollo corporal.

Tabla 31. Peso de los órganos genitales después de la administración

5

Grupo	Número de rata	Peso corporal (g)	Peso del útero (mg)	Índice del útero	Media \pm DT	
					Peso del ovario (mg)	Índice de ovario (mg)
Control	9	63,8 \pm 3,5	114,8 \pm 18,3	180,6 \pm 31,9	54,8 \pm 5,0	86,3 \pm 10,1
Dosis alta	9	66,7 \pm 6,7	136,4 \pm 12,3	196,2 \pm 13,7	58,4 \pm 5,7	88,1 \pm 8,7
Dosis baja	10	68,9 \pm 6,0	120,5 \pm 22,0	177,6 \pm 34,0	55,2 \pm 7,6	80,4 \pm 10,3

En comparación con el grupo de control, no hubo ninguna diferencia significativa en los grupos de CCP ($P > 0,05$).

Tabla 32. Nivel de estradiol en suero y pregnendiona

10

Grupo	Número de rata	Estradiol (pg/ml)	Pregnendiona (ng/mg)
Control	9	4,1 \pm 1,4	0,47 \pm 0,22
Dosis alta	9	4,3 \pm 2,1	0,60 \pm 0,45
Dosis baja	10	3,6 \pm 1,1	0,63 \pm 0,41

En comparación con el grupo de control, no hubo ninguna diferencia significativa en los grupos de CCP ($P > 0,05$).

Conclusión

15

La CCP no mostró efectos adversos obvios sobre el sistema genital de ratas jóvenes adultas (4 semanas) después de 7 días de administración de dosis altas/bajas.

El Ensayo de Micronúcleo de CCP

20

De acuerdo con el Principio de la Guía Nacional China de estudios pre-clínicos para nuevos fármacos. Se realizó un ensayo de micronúcleo. Por lo resultados de este ensayo, se puede decir el efecto de la mutagénesis de la CCP y el alcance del efecto. Se descubrió que el micronúcleo no aumentaba después de tratarse con CCT por sonda gástrica a dosis de 2,5 g/kg/día, 1,25 g/kg/día y 0,625 g/kg/día durante 2 días.

25 Materiales

Se proporcionaron ratones ICR adultos por Nanking Military Area Major Hospital Experimental Animal Center, certificado número: Su-dong (Zhi) 95040. Los animales se criaron en el animalario después de su adquisición con temperaturas que variaban de 18-24 °C, la exposición a la luz fue de aproximadamente 12 horas. La comida para los animales era la comida granular para ratas proporcionada por NMAAMH-EAC. Los experimentos comienzan después de 1 semana de cría.

La Cápsula de Cinnamomi y Poria (CCP) se proporcionó por Lianyungang Kanion Pharmaceutical Co. Ltd. El número de lote es 0002145 (la fecha con la mezcla de pan: 30 de marzo de 2000).

35

Procedimiento:

30 ratones se dividieron de forma aleatoria en 5 grupos, cada grupo contenía 6 animales. Tres de los grupos eran grupos de fármaco y a los animales de este grupo se les proporcionó CCP por sonda gástrica a dosis de 2,5 g/kg/día, 1,25 g/kg/día y 0,625 g/kg/día durante 2 días. (La DL50 de la CCP de un ensayo de toxicidad aguda era de 5 g/kg, se adoptó media dosis para este estudio). Al cuarto grupo se le proporciona una solución salina normal (0,5 ml/ratones) como un grupo de control negativo. Al último grupo se le proporciona ciclofosfamida (CP) en una dosis de 40 mg/kg mediante una inyección en la cavidad abdominal como un grupo de control positivo.

45 Los animales se sacrificaron 24 horas después de la administración. Ambos fémures de los ratones se tomaron para su muestreo. Los fémures se presionaron para quitar la médula, con una gota de suero de ternero añadida, se untó la médula en una placa. Después de que la placa untada se fijara en la solución de metilo durante 10 minutos, se tinto con el método de Giemsa y se observó la lente de aceite de un microscopio. En el principio del estudio de doble ciego, se contaron células de PCE y MNPCE. Se contaron 1000 células de PCE y MNPCE por cada ratón y se calculó la relación de micronúcleos sobre las 1000 células. La relación de micronúcleos representa la relación dosis-eficacia. Los datos se analizaron con el ensayo t estadístico.

50

Resultados

Se descubrió que la incidencia del micronúcleo en el grupo de inyección de ciclofosfamida era obviamente superior que en el control negativo. No obstante, no hubo diferencia estadística entre los grupos de CCP y el control negativo para la incidencia de micronúcleo en células de médula de los ratones.

Tabla 33. El número de micronúcleos en ratones administrados con diferentes dosis de CCP con los grupos de control

Grupo	Animales	Células PCE	Micronúcleos
Control negativo	6	6000	12
Control positivo	6	6000	381
2.500 g/kg	6	6000	25
1.250 g/kg	6	6000	18
0,625	6	6000	17

10

Tabla 34. La incidencia de micronúcleos en ratones administrados con diferentes dosis de CCP con los grupos de control

Grupo	X ± DT	Intervalo
Control negativo	2,6777 ± 1,0328	1-4
Control positivo	63,5000 ± 20,6373	43-98
2.500 g/kg	401667 ± 2,4833	2-9
1.250 g/kg	3,0000 ± 1,7889	1-6
0,625	2,8333 ± 2,1370	1-7

Conclusión

15

Las dosificaciones alta (2,500 g/kg), media (1,250 g/kg) y baja (0,625 g/kg) de CCP no tuvieron un efecto significativo en la mejora de la incidencia del micronúcleo en células de médula ósea de los ratones. Por lo tanto, se concluye que este fármaco no tiene un efecto perjudicial sobre la cromosoma.

20 El ensayo de Ames de CCP

De acuerdo con el Principio de la Guía Nacional China de estudios pre-clínicos para nuevos fármacos, se realizó en ensayo "Ames" sobre CCP para decidir el posible efecto de la mutagénesis del fármaco. Se descubrió que después de la mezcla de CCP en las cepas bacterianas TA97, TA98, TA100 y TA102 a concentraciones de 5 mg/placa, 0,5 mg/placa y 0,05 mg/placa, el número de colonias de retromutación en cada placa de cultivo no aumento con o sin el "S9" Mientras tanto, el control positivo mostró un número elevado de colonias de retromutación. Este ensayo demostró que el CCP no tenía efecto en la mutagénesis.

En este experimento, la mezcla del fármaco suspendido en diferentes dosis en las placas de cultivo de las cepas de mutación de S. Typhimurium sin Histidina puede causar cambios en el número de colonias de retromutación, si el fármaco es eficaz en la mutagénesis.

30

Materiales

Se proporcionaron S. Typhimurium TA97, TA98, TA100 y TA102 por Epidemic Prevention Station, Jiangsu, República Popular de China. Las cepas bacterianas se cultivaron a 37 °C en un baño de agua en vibración hasta que el número de bacterias se elevó hasta 1×10^9 ; la CCP se proporcionó por Lianyungang Kanion Pharmaceutical Co. Ltd., lote número: 0002145 (la fecha de la mezcla con pan: 30 de marzo de 2000).

Fármacos para el control positivo: 1) solución de azida sódica, se añadió 1,5 ml de azida sódica (1,5 µg/1,0 ml) en 500 ml de agua. La solución se filtró para eliminar la bacteria contaminante en ésta. 2) solución de 2-amino flúor, se añadieron 40 ml de 2-amino flúor (200 µg/1,0 ml) en 200 ml de agua. La solución se filtró para eliminar la bacteria contaminante en ésta.

Enzima de microsoma hepáticos (S9): proporcionada por Jiangsu Epidemic Prevention Station, República Popular de China.

Reactivos: glucosa-6-fosfato, coenzima II, histidina y biotina se proporcionaron por Shanghai Biochemistry Reagent Company, el agar por Japan NAGASKITG Biochemistry Company. El resto de reactivos se proporcionaron por Nanjing Chemistry Reagent Company, República Popular de China.

50

Procedimientos:

1) La primera etapa del ensayo fue establecer un esquema sobre su efecto en la inhibición bacteriana y las dosificaciones usadas para el ensayo de la segunda etapa en relación al posible efecto: a) Se inocularon *Bacillus coli* en un matraz cónico de medio de caldo de nutrientes (aproximadamente 20 ml), y se pusieron en una incubadora a 37 °C durante 24 horas para aumentar el número de bacterias. b) El ensayo se realizó sobre placas de cultivo de bacterias de 9 cm. Se añadieron 5,0 mg, 0,5 mg, 0,05 mg de CCP, o 0,1 ml de solución salina normal en placas con 15 ml de nutriente agar y 0,1 ml del fluido bacteriano. Las placas se cultivaron en una incubadora a 37 °C durante 24 horas. Después de la incubación, el número de colonias en cada placa no tenía una diferencia significativa. El resultado mostró que la CCP no tenía efecto en la inhibición bacteriana, incluso con las dosificaciones experimentales mejoradas.

2) Etapa dos: a) Se inocularon *S. Typhimurium* TA97, TA98, TA100 y TA102 respectivamente en matraces cónicos con medio de caldo de nutrientes (aproximadamente 20 ml) y se cultivaron en una incubadora a 37 °C durante 24 horas, a) El ensayo se realizó en placas de cultivo de 9 mm siguiendo procedimientos reguladores para la preparación de reactivos, placas cultivo y fármacos de suspensión de diferentes dosificaciones, la inoculación de cepas de bacterias, el cultivo en una incubadora, etc. c) Se determinaron para el ensayo tres grupos de fármacos de suspensión de dosificaciones bajas, media y alta, un control negativo (auto inverso) y dos controles positivos (azida sódica y 2-amino flúor). Cada uno de los grupos que se ha mencionado anteriormente se realizó para la observación de tres placas de cultivo. Las concentraciones de los fármacos y los agentes de cada grupo se mostraron en la tabla 31.

Tabla 35. Los grupos del ensayo de Ames

Grupos	TA97, TA98, TA100 o TA102 (ml/placa)	Solución salina (ml/placa)	CCP (ml/placa)	azida sódica (µg/placa)	2-amino flúor (µg/placa)	+S9 (ml/placa)	-S9 (tampón, ml/placa)
Control negativo	0,1	1,0				0,5	0,5
Positivo (óxido sódico)	0,1			1,5			0,5
Positivo (2-amino flúor)	0,1				10,0	0,5	0,5
CCP baja	0,1		0,05			0,5	0,5
CCP media	0,1		0,50			0,5	0,5
CCP alta	0,1		5,00			0,5	0,5

25 Resultados:

El número de colonias de retromutación (BMC) en cada grupo de dosis de CCP no aumento con o sin presencia de S9. Los grupos de control positivos han aumentado significativamente para las colonias de retromutación.

30 Tabla 36. Número de Colonias de la Mutación Negra del ensayo de Ames

Grupo	Colonia de la mutación negra (colonia/placa, media ± DT)							
	TA 97		TA 98		TA 100		TA 102	
	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9
Control negativo	147,7 ± 2,1	152,0 ± 29,5	24,7 ± 3,2	24,0 ± 3,66	99,3 ± 8,4	117,1 ± 14,6	186,0 ± 39,8	215,7 ± 33,0
Óxido sódico	1120,0 ± 233,5**		1072,3 ± 215,9**		1163,0 ± 92,3**		1005,7 ± 8301**	
2-amino flúor	1109,7 ± 58,8**		1131,7 ± 233,2**		1095,7 ± 118,2**		1080,0 ± 89,4**	
CCP baja	156,7 ± 12,2	169,3 ± 12,1	22,0 ± 1,0	27,3 ± 4,5	101,7 ± 9,0	106,0 ± 18,1	236,0 ± 73,4	258,0 ± 71,3
CCP media	84,7 ± 7,5	118,3 ± 12,3	24,7 ± 4,5	25,0 ± 6,2	150,3 ± 6,7	149,3 ± 12,7	238,0 ± 64,2	233,3 ± 43,9
CCP alta	127,0 ± 20,0	146,0 ± 29,1	26,7 ± 4,0	28,0 ± 1,7	146,3 ± 12,7	156,31 ± 18,0	247,7 ± 121,4	218,7 ± 19,7

** En comparación con el control negativo (auto inverso), los dos grupos positivos mostraron la diferencia más significativa (p<0,001)

Conclusión

El ensayo mostró que la CCP no tenía efecto de mutagénesis en las 4 cepas de *S. Typhimurium* por el defecto de la histidina.

Evaluación de CCP para Carcinogenicidad en transformación de malignidad celular en células de mamíferos *in vitro*

10 De acuerdo con el Principio de la Guía Nacional China de estudios pre-clínicos para nuevos fármacos. La carcinogénesis de CCP se estudió en el ensayo de transformación de malignidad celular. Se estudiaron las células de embriones de hámster Sirio *in vitro*, los resultantes indicaron que no había transferencia de clones de células malignas observada entre 50 matraces de cultivo ensayados con CCP a dosificaciones de 10 mg/matraz a 0,625 mg/matraz. El ensayo de transformación maligna mostró que no hubo efecto de carcinogénesis de CCP.

15

Materiales

La Cápsula de Cinnamomi y Poria (lote número: 0002145, TCM) se proporcionó por Lianyungang Kanion Pharmaceutical Co. Ltd.; Las células de embriones de hámster Sirio (SHE) fueron una donación del Dr. Li Xiangming, Medical College of YangZhou University; el medio RPMI 1640 y los matraces de cultivo eran productos de Gibco Co.; la penicilina y la estreptomycinina eran productos de Yanan pharmaceutical factory, Shanghai; el suero fetal bovino era de Jinling biotechnology Co., Nanjing; El resto de productos químicos o reactivos eran de Jiangsu Chemical Reagent Co.

25 La incubadora de CO₂ se adquirió en Lab-Line instruments Inc., Estados Unidos. La mesa de trabajo limpia YJ-875 era de Suzhou cleaning Equipment Factory. El microscopio multifunción se adquirió en Olympus Co. Japan. El CO₆₀ radiactivo se proporcionó por Academy of Agricultural Science Jiangsu, China.

Procedimiento

30

Cultivo de células SHE: En circunstancias estériles, la gran extensión de células SHE se descongeló y se recuperó en un baño de agua a 37 °C y se inoculó en varios matraces de cultivo. Se cultivaron a 37 °C, se humedecieron con CO₂ al 5% y airea al 95%, la célula se iba a lavar en una solución salina balanceada de Hank (BBS) después de un cultivo de 24 horas para retirar el dimetilsulfóxido (DMSO). Las células se iban a cultivar en el medio RPMI 1640 con suero fetal de ternero al 10%, penicilina y estreptomycinina durante 24 horas más. Después de esto, las células se sembraron en 1 x 10⁵ células viables por 5 ml de medio de cultivo en matraces de 30 ml y se cultivaron durante 48 horas. Después de 48 horas, las células se expusieron a radiación de CO₆₀ para una dosificación de 70 Gy. Las células se prepararon en forma de "células nutritivas" después de los procedimientos anteriores.

40 El tercer día del experimento, se recuperó otra gran extensión de células SHE y se cultivó para su proliferación, pero no se expusieron a radiación de CO₆₀. Eran lo que se denominó "células diana". Las células diana se inocularon a 1 x 10³ por matraz a los matraces de células nutritivas el sexto día del cultivo y los matraces sembrados se cultivaron durante 1 ó 2 días más.

45 La CCP se molió en una sustancia de polvo fino y se mezcló con el medio de cultivo. Después, el medio de fármaco preparado se cargo en los matraces de células, las células se expusieron a medio de fármaco de CCP y se cultivaron durante 24 horas antes de retirar el medio de fármaco, y las células se lavaron 3 veces en el BBS para retirar los fármacos restantes. Después, los matraces de células se cargaron con medio "libre de fármaco" y se cultivaron durante 10-12 días. Durante esos días, se programó cambiar el medio de cultivo una vez cada dos días.

50

Resultado

Se prepararon un total de 70 matraces de 7 grupos, 10 matraces para cada grupo. El grupo A, B, C, D y E se expusieron al fármaco de ensayo - CCP a dosis de 10 mg/matraz, 5 mg/matraz, 2,5 mg/matraz, 1,25 mg/matraz y 0,625 mg/matraz. El grupo F era un control positivo con MNNG a 5 mg/matraz. El grupo G era el control negativo. Después del cultivo final, las células se recogieron y se fijaron químicamente en metanol durante 15 minutos. Secadas al aire, las células se tiñeron en Giemsa al 10% durante 20 minutos y después estaban listas para su estudio al microscopio. Se observó la apariencia de las células y la morfología de las colonias en la formación y la transformación celular.

60

Existen diferencias entre las colonias celulares normales y las transformadas malignas en la morfología celular al observarse con un microscopio de contraste de fase. Las células y las colonias se observaron y se registraron para 61-70 matraces de cultivo (9 cultivos se desecharon debido a la contaminación bacteriana). La eficacia formadora de colonias (EFC) se calculó como:

65

$$\text{EFC} = \text{Número de células inoculadas} \times 100\%$$

Número de colonias criadas

Los resultados se enumeran en la tabla 33.

Tabla 37. Eficacia formadora de colonias (CE) en grupos de células

5

Grupo	Número	Colonia de células normales (CE)	Colonia celular transformada maligna
A: 10,0 mg/matraz	9	22,6 ± 11,8	0
B: 5,0 mg/matraz	8	27,9 ± 13,7	0
C: 2,5 mg/matraz	7	17,0 ± 7,8	0
D: 1,25 mg/matraz	10	20,6 ± 9,2	0
E: 0,625 mg/matraz	9	12,6 ± 6,7	00
Control positivo	8	2,6 ± 4,5	4,4 ± 3,7
Control negativo	10	19,4 ± 12,6	0

10 **Conclusión**

No se descubrieron colonias celulares transformadas en malignas en los grupos de CCP. Los criterios para la determinación de las células malignas que se adoptaron fueron las de los criterios de Dunkle (1981). En conclusión, la CCP no tiene efecto de carcinogénesis positivo en células de ovario de hámster Sirio.

15

ENSAYO CLÍNICO DE CCP

Cantidad total de casos: 150 (100 casos en el grupo CCP, 50 casos en los grupos de control).

20 Tanto de pacientes ambulatorios como hospitalizados en las siguientes tres unidades:

Departamento de Ginecología, Hospital de TMC, Jiangsu, República Popular de China.

Departamento de Ginecología, Hospital de TMC, Nanjing, República Popular de China.

Departamento de TCM, Hospital de Obstetricia y Ginecología, Nanjing, Jiangsu, República Popular de China.

25

Edad de los pacientes: 20–54, máx. 63, mín. 20, media 37; Progreso de la enfermedad: máx. 17 años, mín. 1 mes, media 25,59 meses (Referencia a Tablas 38 y 39 para la distribución de la edad y transcurso). Cada uno de los 150 se agruparon de forma aleatoria como: 100 casos en el grupo de fármaco CCP y 50 casos en el grupo de control.

30 Hubo un agrupamiento par en los 100 casos del grupo de fármaco CCP. Entre los 100 pacientes, 50 casos se seleccionaron del grupo par emparejado (A), que incluyó casos de histeromioma intramural y de inflamaciones pélvicas crónicas con masas inflamatorias en el abdomen inferior. Los otros 50 pacientes se distribuyeron para estar en el grupo impar (C), que incluyeron enfermedades entre dismenorrea, hemorragia uterina disfuncional causada por descamación del endometrio, hemocele de la cavidad uterina, embarazo extrauterino ectópico y loquiorrea posparto, etc. El grupo de control se clasificó como (B).

35

Se pretendió que el grupo par (A) fuera lo más similar posible al grupo B con respecto a la gravedad de las enfermedades, progreso, edades, etc.

40 **Diagnósticos basados en los síntomas la TCM**Síntomas de Clase A:

- Menstruación profusa

45

- Metrostaxis persistente

- Exceso de coágulos sanguíneos durante el periodo menstrual

- Masa o masas inflamatorias del abdomen inferior

- Dolor vago, dolor distendido o rechazo a la presión en el abdomen inferior

- Manchas púrpuras oscuras en la lengua (índice TCM)

50

- Pulso débil de la muñeca (índice TCM)

Síntomas de Clase B:

- Dolor lumbar

55

- Gran cantidad de leucorrea-

- Distensión importante del ano-
- Los síntomas empeoran durante la menstruación o periodos de cansancio

Síntomas de las pruebas de laboratorio (Clase C)

- 5
- Índices anormales en la reología sanguínea
 - Agregación plaquetaria sanguínea aumentada, o liberación mejorada de las plaquetas sanguíneas

Diagnóstico en la medicinal tradicional occidental

- 10
- 1) Leiomioma uterino pequeño
- Masa o masas en el abdomen inferior
 - Menstruación profusa o prolongada, exceso de coágulos sanguíneos durante el periodo menstrual, dolor vago, dolor distendido en el abdomen inferior o anemia.
- 15
- Útero grande, pero no más grande que un útero de un embarazo de 2 meses (rígido o demostrado por ultrasonidos).

2) Inflammaciones pélvicas crónicas con masas inflamatorias en el abdomen inferior

- 20
- Síntomas: dolor vago, dolor distendido, abdomen inferior pesado o distendido y dolores lumbares. Los síntomas empeoran durante la menstruación o en periodos de cansancio. Otros síntomas incluyen temperatura ligeramente elevada, gran distensión del ano y gran cantidad de leucorrea.

- 25
- Signos: En su mayor parte útero posterior o útero fijo. Masa rígida perceptible con forma de cuerda en un lado del útero que puede generar dolor al presionar el área. Las masas o tejidos más gruesos pueden sentirse en uno o ambos lados del útero. Demostrado por B-ultrasonidos.

3) Hemorragia uterina disfuncional causada por la descamación irregular del endometrio.

- 30
- Síntomas: Periodo prolongado o menstruación en un ciclo mensual normal (más de siete días). Grandes cantidades de sangre durante la menstruación con coágulos sanguíneos o dolor distendido en el abdomen inferior.

- 35
- Signos clínicos: Ciclo normal con una curva de temperatura corporal de dos fases. La temperatura no baja a su nivel de fase folicular después del comienzo de la menstruación. Se demostró por examen físico o ultrasonidos B que no hubo cambios orgánicos.

Criterios de la TCM para el alistamiento de pacientes:

- 40
- 1) Más de 3 elementos de clase A,
 - 2) o, un elemento de clase A más dos elementos de clase C
 - 3) o, un elemento de clase A más dos elementos de clase B y un elemento de clase C
 - 4) Cualquier diagnóstico en las tres medicinas tradicionales orientales

Exclusión de casos:

- 45
- 1) Pacientes con otras enfermedades orgánicas, masas en el abdomen en mujeres con el periodo posmenopáusico o que se descubrió que eran malignas.
 - 2) Interrupción del tratamiento, registro de datos incompleto.
 - 3) Los pacientes fueron evaluados por análisis de sangre de rutina que incluyeron recuento de plaquetas sanguíneas, tiempo de hemorragia y coagulación, pruebas de la función hepática y renal. Se eliminó la menstruación anormal causada por hemorragia, función hepática y renal.
- 50

Procedimiento:

- 55
- Cápsula de Cinnamomi y Poria, tres cápsulas en cada administración, tres veces al día. El grupo de control tomará un bolo de Bolo de Cinnamomi y Poria cada vez, tres veces al día durante 3 meses. Para los pacientes de histeromioma intramural, detener la administración durante la menstruación. Para pacientes de hemorragia uterina disfuncional, detener la administración justo después de la hemorragia.

60 Pruebas de laboratorio:

Excepto para los análisis de sangre de rutina, se requirió tomar a todos los pacientes requirieron lo siguiente:

- 65
- Proporción de agregación de plaquetas en sangre durante 1 y 5 minutos
 - Proporción de viscosidad en sangre completa
 - Proporción de viscosidad en plasma

Sedimentación de eritrocitos
 Volumen de glóbulos rojos empaquetados
 Viscosidad de sangre completa reducida
 Valor K de sedimentación

5

Puntos para determinar su eficacia:

10 Para histeromioma intramural pequeño: útero engrandado, forma irregular del útero, gran cantidad de menstruación y exceso de coágulos sanguíneos (el paciente obtiene cinco puntos por cada uno de los anteriores). Metrostaxis persistente, dolor vago en el abdomen inferior, dolor distendido o rechazo a la presión (el paciente obtiene dos puntos).

15 Para inflamaciones pélvicas crónicas con masas inflamatorias en el abdomen inferior: útero confinado o útero fijo y/o sensibilidad a la presión, oviducto rígido o amarrado y/o sensibilidad a la presión. Tejido engrosado en uno o ambos lados del útero y/o sensibilidad a la presión, masas en uno o ambos lados de la cavidad pélvica (el paciente obtiene cinco puntos por cada uno). Para dolores graves en el abdomen inferior o lumbar, el paciente obtiene tres puntos. Para grandes cantidades de leucorrea, y si cualquier síntoma empeora durante la menstruación o periodos de cansancio, el paciente obtiene dos puntos.

20 Para hemorragia uterina disfuncional causada por descamación irregular del endometrio: menstruación prolongada durante más de siete días, gran cantidad de menstruación, exceso de coágulos sanguíneos, fase lútea de 12-14 días o ésta no estará en su nivel de fase folicular después del inicio de la menstruación (el paciente obtiene cinco puntos para cada uno de estos síntomas). Para dolor en el abdomen inferior, el paciente obtiene dos puntos.

25 Para todos los diagnósticos, si se observan manchas púrpuras oscuras en la lengua o pulso débil en la muñeca, se añade 1 punto para cada uno. Se da medio punto para cada año adicional de enfermedad si el diagnóstico es histeromioma intramural pequeño o inflamaciones pélvicas crónicas con masas inflamatorias en el abdomen inferior. Medio punto para cada tres meses si el diagnóstico es hemorragia uterina disfuncional causada por descamación irregular del endometrio.

30

Grado de gravedad:

Grave: >20 puntos
 Medio: 10-20 puntos
 Leve: <10 puntos

35

Definición y evaluación de la eficacia:

1) Rehabilitación: Recuperación de cualquier síntoma, signos físicos anormales y pruebas de laboratorio. Puntos
 40 totales = 0 y sin recurrencia en 6 meses después del tratamiento.

2) Efecto obvio: Revisar cualquier síntoma o signo físico anormal. El índice de las pruebas de laboratorio obviamente mejoró, al menos una reducción de 2/3 a los puntos totales que antes del tratamiento

3) Mejora: Algunos de los síntomas, signos físicos anormales y pruebas de laboratorio mejoraron. Una reducción de 1/3 en la cantidad total de puntos al compararlos con la cantidad obtenida antes del tratamiento.

45

4) Sin efecto: No hay mejora.

Resultados

1) Véase la Tabla 40 para la comparación de los puntos y la Tabla 41 para la tasa de mejora entre los grupos. La
 50 Tabla 40 y 41 muestran la mejora de los síntomas. Muestran que tanto los grupos de CCP como de BCP están mejor que anterior al tratamiento. No hay diferencias significativas entre estos 2 grupos.

2) Véase la Tabla 5 para cambios en los signos físicos anormales

55 3) La Tabla 43 muestra cambios en las pruebas de laboratorio (reología de la sangre, plaquetas, etc.) de los grupos de pacientes antes y después del tratamiento.

Grupos de CCP A: Rehabilitación 14 (28%), efecto obvio 16, y mejora 18. Rehabilitación más efecto obvio al 60%, tasa eficaz total al 96%.

60

Grupo de BCP (control): R 12, OE 17 y MI 15. Tasa de R al 24%, tasa de R+OE al 58%, tasa total del 88%, la prueba X² demuestra que no hay una diferencia significativa entre los 2 grupos (P>0,05).

Grupo de CCP A+C (100 casos): Tasa de R al 27%, tasa de R+OE al 58%, tasa total al 96%.

65

Cinco pacientes (tres casos en el grupo de CCP, 3% y dos en el grupo de BCP, 4%) se quejaban de un ligero dolor o

incomodidad en su abdomen superior después de tomar los fármacos. Todos se recuperaron de dos a tres horas después de dejar de usar el fármaco y siguieron el consejo de usar solo el fármaco después de las comidas.

Análisis

5 En el sistema de diagnóstico de la TCM, el diagnóstico múltiple que se ha mencionado anteriormente: dismenorrea primaria o secundaria, hemorragia uterina disfuncional causada por descamación irregular del endometrio, inflamaciones pélvicas crónicas con masas inflamatorias en el abdomen inferior o histeromioma intramural pequeño están en el mismo título del catálogo de diagnóstico en la TCM y se considera que comparten las mismas razones etiológicas.

10 Se estudiaron y trataron de la misma manera con los mismos fármacos.

15 El título es "Diseases of Blood Stasis" en OB/GYN. La edad común de dichas enfermedades es 25-54 (mujeres en edad fértil). La duración de dichas enfermedades varía de 1 mes a 17 años.

20 Tanto la CCP como BCP pueden reducir los síntomas de dichas enfermedades, especialmente para los siguientes síntomas en la Clase A y B (mejora de más del 80%) para menstruación profusa, Metrostaxis persistente, exceso de coágulos sanguíneos durante el periodo menstrual, dolor vago o dolor de distendido en el abdomen inferior, dolor intenso en las lumbares, ano muy distendido. Para otros síntomas en la Clase A y B, hubo una mejora del 70%. El efecto de la CCP y BCP en los síntomas anteriores no mostró ninguna diferencia significativa (Tabla 37).

25 Las masas en el abdomen se detectaron por exámenes físicos o por ultrasonidos B en pacientes con masas inflamatorias en el abdomen inferior o histeromioma intramural pequeño: en grupos de CCP, el examen físico mostró que el 28% de masas había desaparecido, reducción del 36%, se controló el tamaño del 44% y aumentaron el 2%. En la exploración por ultrasonidos B el 30% desapareció, se redujo el 36%, se controló el tamaño del 32% y el 2% aumentaron. En BCP, se encontraron resultados similares. No hubo una diferencia significativa entre los dos grupos ($P > 0,05$) (Tabla 42).

30 Puntos totales: Tanto los grupos de CCP como de BCP mostraron diferencias antes y después del tratamiento ($P < 0,001$). No se encontraron diferencias significativas entre los dos grupos en cualquier diagnóstico individual ($P > 0,05$) excepto que en los análisis pares, el punto de la CCP era más grande que la del grupo BCP ($P < 0,05$) Tabla 43.

35 En la observación del estudio de laboratorio hecho con diferentes grupos, los seis índices del estudio de la reología de la sangre y los dos índices para la agregación plaquetaria se registraron cuidadosamente y se analizaron. El grupo de CCP mostró diferencias significativas después del tratamiento en cada uno de los ocho índices mientras que los cambios de BCP fueron notables en seis de los ocho (excepto la proporción de agregación de plaquetas en un minuto y la sedimentación de eritrocitos). Los resultados muestran que el grupo CCP o el BCP pueden cambiar la condición del flujo sanguíneo y la circulación. Por motivos desconocidos, la comparación entre grupos pares A y B

40 mostró que hubo algunas diferencias significativas entre los dos grupos excepto para la relación de la viscosidad de sangre completa y redujo la viscosidad de la sangre completa. Esto indicó que el grupo de CCP tenía efectos más fuertes sobre el flujo sanguíneo.

45 En estudios de laboratorio, el grupo de CCP mostró resultados positivos en la mejora de los síntomas típicos y quejas, signos físicos y exámenes, y en los índices del flujo sanguíneo. La cápsula parece que es tan eficaz como el BCP que es una preparación de la TCM con éxito en el tratamiento de las enfermedades que se han mencionado anteriormente y se ha practicado durante décadas en China. El grupo de CCP incluso mostró más beneficios que el grupo de BCP.

50 Tabla 38. Distribución de la edad de los pacientes en los grupos

Tabla 39. Distribución de la duración de la enfermedad en los grupos

Grupo	Diagnóstico	Número de casos	Máx. (Mes)	Mín. (Mes)	\bar{X}	S	$t_{\bar{X}_I - \bar{X}_i}$
A	LU+MI	50	100	1	25,92	34,3908	0,1308
B	LU+AMI	50	204	1	24,98	37,3928	
C	HUD etc.	50	156	1	25,86	33,0972	
A + C	Casos mixtos	100	100	1	25,89	33,9720	
A	LU	25	100	2	29,92	37,5488	0,1598
	MI	25	120	1	21,92	31,1688	0,0341
B	LU	25	204	2	20,36	40,0145	
	MI	25	160	1	21,60	35,0678	

LU: Leiomioma uterino; MI: Masa inflamatoria; HUD: Hemorragia uterina disfuncional

55

Tabla 40. Cambios en los puntos antes y después del tratamiento

Grupo	Diag.	Antes del tratamiento			Después del tratamiento			Resta de puntos	Sd	tα	t _{...-..}
		caso	\bar{X}	S	\bar{X}	S	\bar{d}				
A	LU+MI	50	21,5	6,3374	5,11	4,9315	16,39	6,0426	19,1796	1,9123	
B	LU+MI	50	20,72	7,5958	6,77	6,3465	13,95	6,7000	14,7225		
Grupo		25-34 años (%)		35-44 años (%)		45-54 años (%)		Total	X ²		
A		16	(32)	26	(52)	8	(16)	50	0,000		
B		16	(32)	26	(52)	8	(16)	50			
C		27	(54)	13	(26)	10	(20)	50			
A + C		43	(43)	39	(39)	18	(18)	100			
C	HUD	50	17,96	7,7800	6,10	5,8379	11,86	6,6078	12,6914		
A+C	Casos mixtos	100	19,73	7,2803	5,605	5,3994	14,125	6,6982	21,0878		
A	LU	25	24,06	4,9986	6,44	5,5945	17,62	6,6274	13,2933	1,7981	
	MI	25	18,94	6,5849	3,78	3,8299	15,16	5,2415	14,4614	0,83514	
B	LU	25	22,34	7,5605	8,22	6,7628	14,12	7,1272	9,9057		
	MI	25	19,10	7,4274	5,32	5,6677	13,78	6,3870	10,7876		

Tabla 41. Cambios en los síntomas clínicos

Síntomas	Grupo	Casos observados antes del tratamiento	Casos de mejora después del tratamiento	Tasa de mejora (%)	X ²
Menstruación profusa	A	29	27	93,10	0,668
	B	28	24	85,71	
	C	40	39	97,50	
	A+C	69	66	95,65	
Metrostaxis persistente	A	21	18	85,71	0,013
	B	19	16	84,21	
	C	20	18	90,00	
	A+C	41	36	87,8	
Abundantes coágulos sanguíneos durante el periodo menstrual	A	33	31	93,94	0,059
	B	34	30	88,24	
	C	44	42	95,45	
	A+C	77	73	94,81	
Dolor vago en el abdomen inferior	A	47	45	95,74	1,14
	B	48	43	89,58	
(continúa)					
Síntomas	Grupo	Casos observados antes del tratamiento	Casos de mejora después del tratamiento	Tasa de mejora (%)	X ²
	C	35	34	97,14	
	A+C	82	79	96,34	
Marchas púrpuras oscuras en la lengua	A	32	25	78,13	0,154
	B	33	24	72,73	
	C	31	27	87,10	
	A+C	63	52	82,54	
Pulso débil de la muñeca	A	34	27	79,41	0,155
	B	31	23	74,19	
	C	33	27	81,82	
	A+C	67	54	80,60	
Dolor fuerte en las lumbares	A	36	32	38,89	1,249
	B	30	23	76,67	
	C	34	31	91,18	
	A+C	70	60	90	
Gran cantidad de leucorrea	A	25	22	88,0	0,003
	B	24	21	87,50	
	C	19	15	78,95	
	A+C	43	36	83,72	
Gran distensión del ano	A	17	16	74,12	0,257
	B	18	16	83,89	
	C	15	14	93,33	
	A+C	32	30	93,75	

síntomas que empeoran durante la menstruación o cansancio	A	18	14	77,78	0,022
	B	16	12	75	
	C	20	17	85	
	A+C	38	31	81,58	

Tabla 42. Cambios en las masas del abdomen en examen físico y ultrasonidos B

	Grupo	Casos	Desvanecido (%)	Encogido (%)	Sin cambios (%)	Agrandado (%)	Grado medio	
Examen físico	A	50	14(28)	13(26)	22(41)	1(2)	2,80	0,1443
	B	50	9(18)	22(44)	16(32)	3(6)	2,74	
Ultrasonidos B	A	50	15(30)	18(36)	16(32)	1(2)	2,96	0,2337
	B	50	8(16)	22(44)	12(24)	3(6)	2,50	

5 Tabla 43-1. Cambios en los índices de la reología de la sangre

Elemento	Grupo	Antes		Después		Resta		\bar{d}	$t_{\bar{d}}$
		\bar{X}_1	S1	\bar{X}_2	S2	$\bar{d} - s\bar{d}$			
Proporción de viscosidad en sangre completa	A	1,532	0,167	1,460	0,219	0,0724	0,0293	2,469	1,2856
	B	1,591	0,150	1,512	0,192	0,079	0,0214	3,688	
	C	1,577	0,286	1,502	0,282	0,026	0,0250	1,023	
	A+C	1,554	0,235	1,531	0,261	0,023	0,0116	1,989	
Proporción de viscosidad en plasma	A	1,585	0,108	1,530	0,129	0,055	0,0176	3,104	8,1715
	B	1,620	0,120	1,536	0,127	0,084	0,0184	4,571	
	C	1,577	0,285	1,527	0,128	0,050	0,040	1,250	
	A+C	1,597	0,124	1,531	0,127	0,066	0,0128	5,140	
Sedimentación de eritrocitos	A	20,860	14,777	24,620	10,825	4,240	1,721	2,463	13,0023
	C	25,160	11,467	23,760	10,3205	1,400	1,035	1,352	
	A+C	27,010	13,027	24,190	10,583	2,820	1,009	2,7940	
Volumen de glóbulos rojos empaquetados	A	40,940	6,769	39,480	5,7365	1,460	1,050	1,391	3,4771
	B	43,327	4,233	41,135	4,530	2,202	1,084	2,031	
	C	41,600	5,341	40,380	4,060	1,220	0,719	1,698	
	A+C	41,270	6,106	39,930	4,990	1,340	0,633	2,117	
Viscosidad de sangre completa reducida	A	10,1022	2,720	9,604	2,392	0,499	0,293	1,700	0,785
	B	9,849	2,717	9,307	2,380	0,542	0,259	2,094	
	C	9,865	3,002	9,556	2,665	0,309	0,501	0,616	
	A+C	9,984	2,871	9,580	2,523	0,404	0,203	1,991	
Valor K de sedimentación	A	93,408	43,377	78,809	36,608	14,599	4,726	3,089	7,383
	B	97,815	47,710	89,168	34,789	8,647	3,188	2,712	
	C	86,106	36,955	78,599	33,239	7,512	2,937	1,861	
	A+C	89,757	40,461	78,704	34,912	11,053	3,112	3,552	

Tabla 43-2. Cambios en la agregación de plaquetas

Elemento	Grupo	Antes			Después		Resta		\bar{d}	$t_{\bar{d}}$
		N	\bar{X}_1	S1	\bar{X}_2	S2	$\bar{d} - s\bar{d}$			
1'	A	42	42,647	20,874	35,210	16,431	7,437	2,300	3,233	11,864
	B	44	39,620	16,379	40,872	17,313	1,244	2,529	0,492	
	C	48	45,613	21,483	43,030	15,960	2,581	3,025	0,854	
	A+C	90	44,130	21,127	39,120	16,212	5,010	2,103	2,382	
5'	A	42	65,475	26,325	53,245	24,062	12,232	3,978	3,075	5,245
	B	44	56,256	25,758	48,092	26,328	8,164	3,188	2,561	
	C	48	63,490	25,715	63,637	21,951	0,148	0,148	0,118	
	A+C	90	64,480	26,015	58,440	23,480	5,980	2,981	2,006	

Tabla 44. Comparación de la eficacia de los fármacos entre grupos

Grupo	Análisis exhaustivo				n	Proporción de rehabilitación	de X^2
	Rehabilitación	Efecto obvio	Mejora	Sin efecto			
A	14	16	18	2	50	14(24,0)	0,2079
B	12	17	15	6	50	12(24,0)	
C	13	15	18	4	50	13(26,0)	
A+C	27	31	36	6	100	26(27,0)	0,1559

Grupo	Proporción de efecto obvio	X^2	Tasa de eficacia total (%)	X^2	μ
A	30(60,0)	0,0413	48(96,0)	2,1739	0,2887
B	29(58,0)		44(88,0)		
C	28(56,0)		46(92,0)		
A+C	58(58,0)	0,2	94(94,0)	1,6304	

REFERENCIAS

5
1. Wenzloff NJ, Shimp L, *Therapeutic management of primary dismenorrea*. Drug Intell Clin Pharm 1984 Jan; 18 (1):22-6]; Lela Kruse RN, *Dysmenorrhea - painful menstrual cramps*, <http://coninfo.nursing.uiowa.edu>

2. Current concepts en the etiology and treatment of primary dismenorrea Acta Obstet Gynecol Scand Suppl 1986; 10 138: 7-10

3. *Dysmenorrhea*. Women Health 1983 Summer-Fall; 8(2-3):91-106; Dysmenorrhea during adolescence. Acta Obstet Gynecol Scand Suppl 1979; 87: 61-6

15 4. Dawood MY, *Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and changing attitudes toward dismenorrea*. Am J Med 1988 May 20; 84(5A):23-9

5. Asch RH, Greenblatt RB, *Primary and membranous dismenorrea*. South Med J 1978 Oct; 71 (10): 1247-9,1252
20 *Relief From Menstrual Cramps*, Estronaut, a forum for women's health, <http://www.estronaut.com>

6. Wangzhaoyi, Wangdengke etc. Journal of Yunnan College of Traditional Chinese Medicine 11 (4): 28, 1982

7. Xiejiajun, Renshiping etc.: Research of Traditional Chinese Medicine (5): 24, 1986

25 8. Teaching Materials of "the Golden Chamber", editado por Hubei College of Traditional Chinese Medicine, pág. 203. Publicado por Shanghai Science Publishing Company en septiembre de 1963.

REIVINDICACIONES

1. Una composición extraída del tallo de *Cinnamomum cassia*, esclerocio de *Poria cocos*, corteza de raíz de *Paeonia suffruticosa*, raíz de *Paeonia lactiflora*, y semilla de *Prunus persica* o *Prunus davidiana*, en la que la composición comprende paeoniflorina al 1,3-1,9% y paenonol al 0,7-1,1%, y puede obtenerse mediante un procedimiento que comprende las etapas de:
- a) obtener, podar, lavar y cortar las partes de las plantas: tallo de *Cinnamomum cassia*, esclerocio de *Poria cocos*, corteza de raíz de *Paeonia suffruticosa*, raíz de *Paeonia lactiflora*, y semilla de *Prunus persica* o *Prunus davidiana*;
 - b) secar los materiales de la etapa (a) para formar cinco materiales medicinales: concretamente *Cinnamomum cassia*, *Poria cocos*, *Paeonia suffruticosa*, *Paeonia lactiflora* y *Prunus persica* o *Prunus davidiana*, respectivamente;
 - c) aplastar *Cinnamomum cassia*, *Prunus persica* o *Prunus davidiana* y *Paeonia suffruticosa* en polvos gruesos y cortar *Paeonia lactiflora* en rodajas;
 - d) esterilizar la *Poria cocos* antes granular el 50% de su peso en la fórmula en polvo fino y filtrar el polvo;
 - e) poner una cantidad completa de polvo de *Paeonia suffruticosa* a través de un procedimiento de reflujo caliente en agua y recoger su destilado, guardando tanto el residuo como el fluido;
 - f) filtrar y secar al vacío dicho destilado para obtener Paenonol en bruto;
 - g) disolver el paenonol en bruto en alcohol al 95% para formar una solución A, y añadir lentamente la solución A en una solución de agua saturada de β -ciclodextrina mientras se agita a aproximadamente 80 °C para formar una mezcla A;
 - h) filtrar la mezcla A y lavar el residuo con alcohol anhidro y dejar secar el residuo lavado para obtener clatrato A;
 - i) destilar una cantidad completa de *Cinnamomum cassia* en agua durante cuatro horas y recoger su materia volátil, guardando tanto el residuo como el fluido;
 - j) disolver la materia volátil en alcohol al 95% para formar una solución B, y añadir lentamente una solución B en una solución de agua saturada de β -ciclodextrina mientras se agita a aproximadamente 45 °C para formar una mezcla B;
 - k) filtrar la mezcla B y lavar el residuo con alcohol anhidro y dejar secar el residuo lavado para obtener clatrato B;
 - l) mezclar los residuos de la etapa (e) e (i) con una cantidad completa de *Paeonia lactiflora*, *Prunus persica* o *Prunus davidiana*, al 50% de *Poria cocos* y alcohol al 90%; extraer la mezcla, filtrar el extracto y recuperar el alcohol del extracto filtrado y guardar el residuo;
 - m) añadir agua en el residuo de la etapa (l), destilarlo y filtrar el extracto de agua;
 - n) mezclar el extracto de agua de la etapa (m), el extracto de alcohol de la etapa (l), el fluido de la etapa (e) y la etapa (i), y enriquecer la mezcla para formar un extracto de crema;
 - o) mezclar el extracto de crema con polvo de *Poria cocos* de la etapa (d); moler la mezcla en polvo fino después de secarla al vacío para formar un gránulo;
 - p) mezclar el polvo fino con alcohol al 60% y goma de almidón y granular el polvo a 30 mallas para formar el gránulo A;
 - q) mezclar clatrato A de la etapa (h) y clatrato B de la etapa (k) con dióxido de silicio; y
 - r) mezclar la mezcla de la etapa (q) con el gránulo A de la etapa (p) para obtener una composición de gránulo final.
2. Una composición de la reivindicación 1, caracterizada porque produce 7 picos cuando se somete a cromatografía de gases como se muestra en la figura 1, produce 13 picos cuando la materia soluble en agua de la composición se somete a HPLC como se muestra en la figura 2, produce 7 picos a 210 nm de longitud de onda de detección cuando la materia liposoluble de la composición se somete a HPLC como se muestra en la figura 3, o produce 8 picos a 242 nm de longitud de onda de detección cuando la materia liposoluble de la composición se somete a HPLC como se muestra en la figura 4.
3. La composición de la reivindicación 1 formada en forma de una cápsula.
4. La composición de la reivindicación 3 para su uso como un medicamento para relajar los músculos lisos del útero

excesivamente contraídos.

5. La composición de la reivindicación 3 para su uso como un medicamento para reducir la viscosidad de la sangre completa en un sujeto inhibiendo la aglutinación de las plaquetas sanguíneas e inhibiendo la liberación de plaquetas sanguíneas.
5
6. La composición de la reivindicación 3 para su uso como un medicamento para regular las funciones inflamatorias en un sujeto inhibiendo las reacciones inflamatorias de diversos tipos.
- 10 7. La composición de la reivindicación 3 para su uso como un medicamento para inducir un efecto analgésico en dolores de diversos tipos.
8. La composición de la reivindicación 3 para su uso como un medicamento para tratar la dismenorrea primaria y secundaria diversos tipos de grados.
15
9. La composición de la reivindicación 3 para su uso como un medicamento para aliviar síntomas clínicos en un sujeto que padece de dismenorrea primaria y secundaria de diversos tipos.
10. La composición de la reivindicación 3 para su uso como un medicamento para tratar hemorragia uterina disfuncional causada por la descamación irregular del endometrio uterino.
20
11. La composición de la reivindicación 3 para su uso como un medicamento para aliviar los síntomas clínicos en un sujeto que padece hemorragia uterina disfuncional causada por la descamación irregular del endometrio uterino.
- 25 12. La composición de la reivindicación 3 para su uso como un medicamento para tratar inflamaciones pélvicas crónicas y masas inflamatorias del abdomen inferior.
13. La composición de la reivindicación 3 para su uso como un medicamento para aliviar los síntomas clínicos en un sujeto que padece inflamaciones pélvicas crónicas y masas inflamatorias del abdomen inferior.
30
14. La composición de la reivindicación 3 para su uso como un medicamento para tratar histeromioma intramural pequeño.
15. La composición de la reivindicación 3 para su uso como un medicamento para aliviar los síntomas clínicos en un sujeto que padece histeromioma intramural pequeño.
35
16. La composición de la reivindicación 3 para su uso como un medicamento para aliviar los síntomas de una menstruación profusa o prolongada, exceso de coágulos sanguíneos durante el periodo menstrual, dolor vago, dolor distendido en el abdomen inferior y lumbar inferior, gran cantidad de leucorrea, distensión importante del ano o anemia en un sujeto.
40
17. La composición de la reivindicación 3 para su uso como un medicamento para mejorar índices anormales en reología sanguínea.
- 45 18. La composición de la reivindicación 3 para su uso como un medicamento para disminuir las manchas púrpuras oscuras en la lengua.
19. La composición de la reivindicación 3 para su uso como un medicamento para mejorar el pulso débil de la muñeca.
50

Figura 1

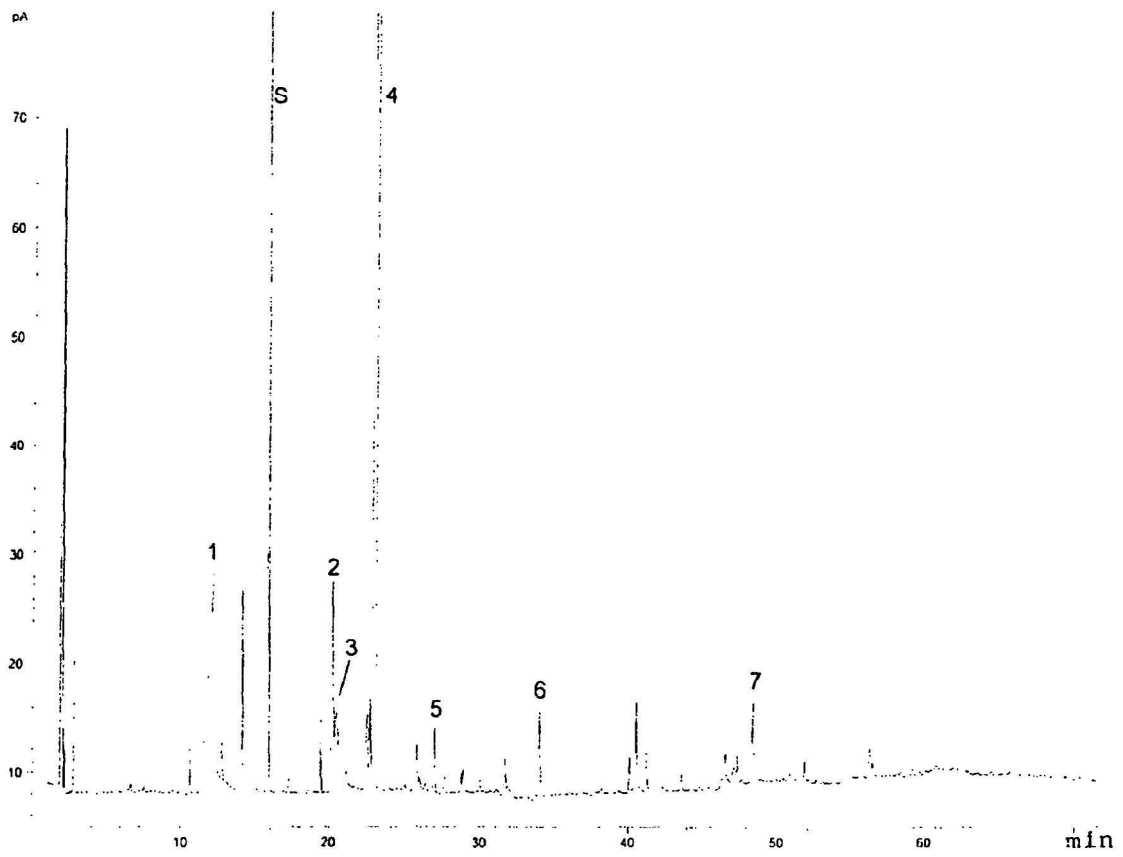


Figura 2

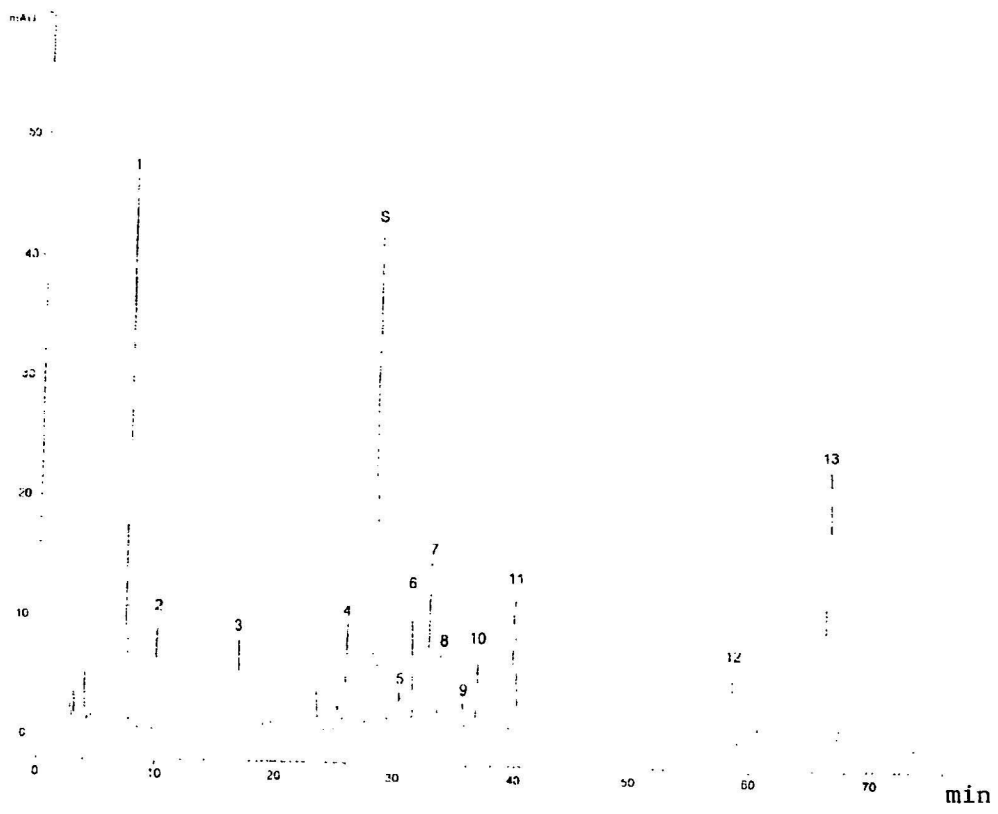


Figura 3

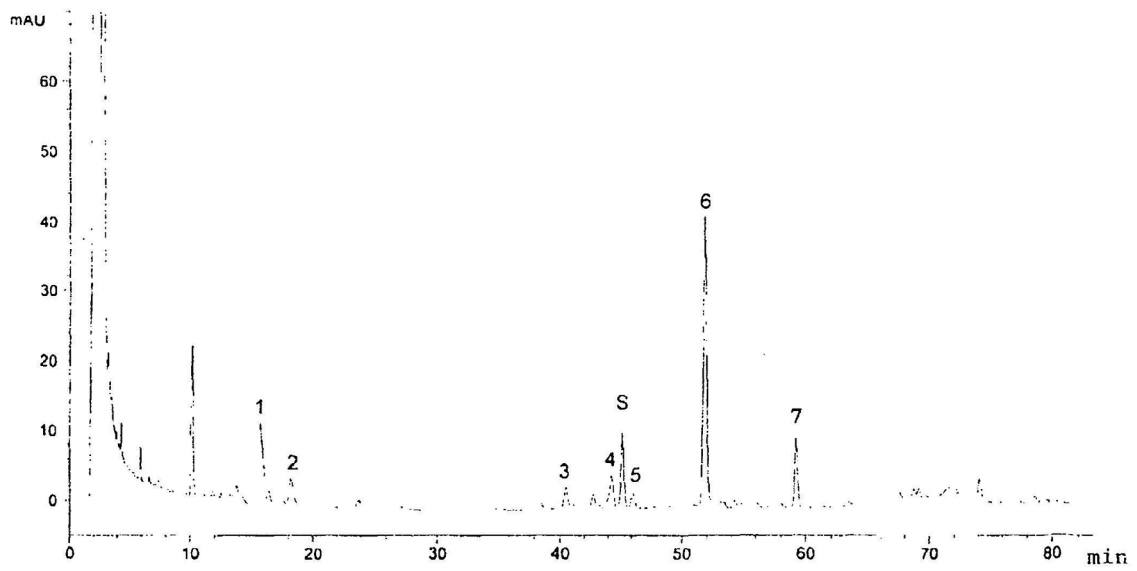


Figura 4

