

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 404 819**

51 Int. Cl.:

A61K 31/05 (2006.01)

A61K 31/085 (2006.01)

A61K 31/7032 (2006.01)

A61P 25/24 (2006.01)

A23L 1/30 (2006.01)

A61K 31/7034 (2006.01)

A61K 31/222 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.07.2008 E 08783745 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.02.2013 EP 2193789**

54 Título: **Aplicación de 3,5-dihidroxitolueno o derivados de este en la preparación de medicina y alimento funcional para tratar o prevenir la depresión**

30 Prioridad:

03.08.2007 CN 200710066088

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

29.05.2013

73 Titular/es:

**KUNMING INSTITUTE OF BOTANY, CHINESE
ACADEMY OF SCIENCES (33.3%)
NO 132 LANHEILU ROAD
KUNMING, YUNNAN 650204, CN;
KUNMING INSTITUTE OF ZOOLOGY, CHINESE
ACADEMY OF SCIENCES (33.3%) y
KUNMING JINGBIAO BIOSCIENCES R&D CO.,
LTD. (33.3%)**

72 Inventor/es:

**CHEN, JIJUN;
XU, LIN;
ZHOU, JUN;
LU, JUN;
MAO, RONGRONG;
TIAN, MENG;
ZHOU, QIXIN;
ZHANG, XUEMEI;
SHEN, YONG;
JIANG, ZHIYONG y
ZUO, AIXUE**

74 Agente/Representante:

LAZCANO GAINZA, Jesús

ES 2 404 819 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

Aplicación de 3,5-dihidroxitolueno o derivados de este en la preparación de medicina y alimento funcional para tratar o prevenir la depresión

CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a la aplicación de 5-metil-1,3-bencenodiol o derivados específicos de estos, o medicinas de composiciones farmacéuticas o alimentos funcionales que los contienen, para usar en el tratamiento y prevención de la depresión.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

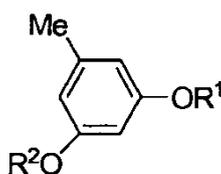
La depresión es un trastorno mental común que afecta hasta 20% de la población total. Los siguientes síntomas de la depresión son comunes: el estado de ánimo deprimido persistente o recurrente, ansiedad, agitación, trastornos del sueño, respuesta anormal al estrés, y deterioro cognitivo funcional.

Durante las últimas décadas, se han desarrollado muchos modelos animales aceptados para evaluar la actividad de los antidepresivos bajo el impulso de la neurofarmacología. Los modelos más ampliamente usados son la prueba de natación forzada y la prueba de suspensión de la cola en los roedores. En los años recientes, muchos estudios demostraron que la oscuridad constante, la privación del sueño y el estrés crónico impredecible leve son modelos etiológicos para la ocurrencia de la depresión. Estos modelos sentaron las bases para el estudio de los antidepresivos. Aunque la patogénesis de la depresión no es todavía del todo clara, los cambios en la plasticidad sináptica del hipocampo (por ejemplo, la potenciación a largo plazo) y su papel en la función cognitiva puede ser uno de los mecanismos fundamentales que subyacen a la depresión.

El 5-metil-1,3-bencenodiol (comúnmente conocido como orcinol) se usa generalmente como un inhibidor de la polimerización térmica en el procesamiento de los intermediarios de la pirólisis para la síntesis orgánica. Es además un reactivo para la determinación específica del ARN. El 5-metil-1,3-bencenodiol y sus derivados se han usado frecuentemente como antioxidantes y poseen un grado de actividad antibacteriana. Hasta ahora, no hay ningún informe acerca de su uso en la reducción de la depresión, ansiedad, agitación, trastornos del sueño, respuestas anormales al estrés, o deterioro cognitivo funcional. El documento CN 1171264 revela una mezcla de plantas que incluye *Rhizoma curculiginis* para tratar la depresión.

SUMARIO DE LA INVENCION

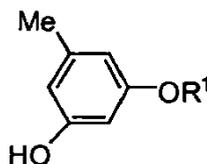
La presente invención se relaciona con el 5-metil-1,3-bencenodiol o derivados específicos de éste, o medicinas de composiciones farmacéuticas o alimentos funcionales que los contienen, para usar en el tratamiento y prevención de la depresión. Dichos derivados específicos se representan por la Fórmula I:



I

en donde R¹ y/o R² son hidrógeno, β-D-glucopiranosilo, β-D-glucopiranosil-(1→6)-β-D-glucopiranosilo, manosilo, 2, 3, 4, 6-tetra-β-acetil-β-D-glucopiranosilo, alosilo, galactosilo, ramnopiranosilo, fucosilo, xilosilo, arabinosilo, acetilo, propionilo, benzoilo, cinamoilo, succinilo, metilo, etilo, propilo, butilo, o bencilo.

Más preferentemente, los compuestos de la presente invención son 5-metil-1,3-bencenodiol o sus derivados representados por la Fórmula II:

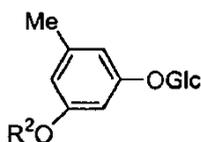


II

5 en donde R¹ es hidrógeno, β-D-glucopiranosilo, β-D-glucopiranosil-(1→6)-β-D-glucopiranosilo, manosilo, 2, 3, 4, 6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosilo, alosilo, galactosilo, ramnopiranosilo, fucosilo, xilosilo, arabinosilo, acetilo, propionilo, benzoilo, cinamoilo, succinilo, metilo, etilo, propilo, butilo, o bencilo;

10 Más preferentemente, en donde R¹ es hidrógeno, β-D-glucopiranosilo; β-D-glucopiranosil-(1→6)-β-D-glucopiranosilo, el cual se enumera como orcinol; u orcinol-1-O-β-D-glucopiranosido; u orcinol-1-O-[β-D-glucopiranosil-(1→6)]-β-D-glucopiranosido.

Más preferentemente, los compuestos de la presente invención son los derivados de 5-metil-1,3-bencenodiol representados por la Fórmula III:

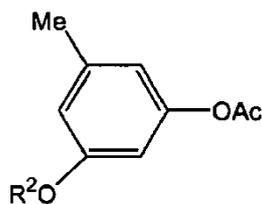


III

15 en donde R² es β-D-glucopiranosilo, β-D-glucopiranosil-(1→6)-β-D-glucopiranosilo, 2, 3, 4, 6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosilo, manosilo, alosilo, galactosilo, ramnopiranosilo, fucosilo, xilosilo, arabinosilo, acetilo, propionilo, benzoilo, cinamoilo, succinilo, metilo, etilo, propilo, butilo, o bencilo.

20 Especialmente, R² es β-D-glucopiranosilo, β-D-glucopiranosil-(1→6)-β-D-glucopiranosilo, o ramnopiranosilo.

25 Más preferentemente, los compuestos de la presente invención son los derivados de 5-metil-1,3-bencenodiol representados por la Fórmula IV:



IV

30 en donde R² es β-D-glucopiranosilo, β-D-glucopiranosil-(1→6)-β-D-glucopiranosilo, 2, 3, 4, 6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosilo, manosilo, alosilo, galactosilo, ramnopiranosilo, fucosilo, xilosil, arabinosilo, acetilo, propionilo, benzoilo, cinamoilo, succinilo, metilo, etilo, propilo, butilo, o bencilo.

Preferentemente, R² es 2, 3, 4, 6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosilo, o acetilo.

35 La depresión, como se describe en el Manual de Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales, cuarta edición (DSM-IV) publicado por la Asociación Psiquiátrica Americana, y la Clasificación Internacional de Enfermedades, décima edición (ICD-10), incluye diferentes subtipos de enfermedades mentales y trastornos con: (1) depresión y trastornos del estado de ánimo, tales como la depresión, la manía, manía mixta, y la hipomanía, (2) los trastornos depresivos, tales como el trastorno depresivo y de mal humor, (3) otros trastornos afectivos, por ejemplo, causados por la mala salud, que incluyen diferentes enfermedades mentales o subtipos de trastornos con características de los trastornos depresivos y los trastornos afectivos causados por sustancias (por ejemplo, los fármacos adictivos) o la terapia (tales como cirugía, radioterapia o quimioterapia), (4) trastorno bipolar o trastorno afectivo bipolar, que contiene dos o más episodios de depresión e hipomanía y episodios alternados de manía y depresión.

Además de los síntomas de la depresión descritos en el DSM-IV y la ICD-10, la presente invención también involucra el

tratamiento y prevención de los trastornos del ritmo circadiano, trastornos del sueño, estrés crónico, ansiedad, deterioro inducido por el estrés agudo, o deterioro cognitivo funcional o trastornos como síntomas adicionales de la depresión.

5 Trastornos del sueño y del ritmo circadiano: trastorno del sueño, una enfermedad muy común en pacientes con depresión, es uno de los contenidos de las escalas de clasificación para evaluar la magnitud de la depresión. Los trastornos del ritmo circadiano se refieren a la función fisiológica más esencial. El ritmo circadiano normal, está determinado por la alternancia de luz y oscuridad. La diferencia horaria, temporada, hábito de vida, o la herencia cerebral pueden dar lugar a trastornos del ritmo circadiano, lo que puede resultar además en déficits de las funciones cerebrales superiores, tales como la depresión y el deterioro cognitivo funcional. De acuerdo con el DSM-IV o la ICD-10, los trastornos del sueño se dividen en tres categorías principales: (1) disomnias, tales como insomnio, hipersomnia, narcolepsia, trastornos del sueño relacionados con la respiración, y trastornos del sueño relacionados con el ritmo circadiano; (2) parasomnias, tales como pesadillas, pánico del sueño y sonambulismo; (3) los trastornos del sueño relacionados con la salud y los trastornos del sueño provocados por sustancias (por ejemplo, los fármacos adictivos) o la terapia (como la cirugía, radioterapia o quimioterapia).

15 La ansiedad es un síntoma muy común en los pacientes con depresión. Es una de las directrices para evaluar la magnitud de la depresión. Los trastornos de ansiedad incluyen dos categorías principales: (1) trastornos de pánico, por ejemplo, agorafobia, trastornos de pánico particulares (tales como el miedo a animales particulares, entornos o transfusión de sangre, fobia social o trastorno obsesivo-compulsivo), trastorno de estrés postraumático, trastorno de estrés agudo, trastorno de ansiedad prolongado, y (2) trastornos de ansiedad relacionados con la salud y trastornos inducidos por sustancias (por ejemplo, los fármacos adictivos) o la terapia (tales como la cirugía, radioterapia o quimioterapia). El laberinto en cruz elevado y la conducta de inmovilidad son modelos de roedores usados ampliamente para evaluar la actividad anti-ansiedad de los medicamentos.

25 El estrés se define en los sistemas biológicos como cualquier condición que perturba seriamente la homeostasis fisiológica o psicológica de un organismo. Se cree que el estrés es uno de los principales factores que exacerba o que conduce a muchas enfermedades, tales como la enfermedad mental y los trastornos funcionales cognitivos. Los eventos estresantes pueden incluir una serie de acontecimientos de la vida diaria, y varían de persona a persona. Tomando algunas sustancias, por ejemplo, los fármacos adictivos o el sometimiento a terapia, tal como la cirugía, por lo general conducen a respuestas de estrés anormales. Los indicadores biológicos usados comúnmente para evaluar el estrés incluyen los niveles de corticosteroides (tal como la corticosterona en roedores y cortisol en humanos), que puede conducir a un deterioro inducido por el estrés agudo relevante, tales como el daño de la plasticidad sináptica del hipocampo, así como el aprendizaje y la memoria. En experimentos con animales, los métodos de estrés comúnmente usados incluyen golpes de pie y la plataforma elevada.

35 La cognición es una de las funciones cerebrales superiores más importantes. Se refiere al aprendizaje, la memoria, el lenguaje, el pensamiento y el estado de ánimo. La depresión se considera que es un tipo de trastorno cognitivo, y los pacientes que la padecen tienen estado de ánimo y pensamientos negativos automáticamente. En 1949, Hebb propuso la idea de que la modificación sináptica es la base del aprendizaje y la memoria. En 1973, esta hipótesis se validó en experimentos por Bliss y otros que descubrieron la potenciación del hipocampo a largo plazo (LTP). Sin embargo, hasta el momento ningún medicamento que regula directamente la LTP se ha usado para tratar la depresión en la clínica. Efectos curativos mejores y más rápidos se pueden lograr mediante el desarrollo de medicamentos que modifican la plasticidad sináptica en el tratamiento de la depresión, sus síntomas relacionados, y sus causas.

45 El 5-metil-1,3-bencenodiol o sus derivados pueden usarse directamente en forma libre o en composiciones farmacéuticas. Las composiciones farmacéuticas descritas contienen relaciones en peso de 0.1-99% de 5-metil-1,3-bencenodiol o sus derivados en excipientes farmacéuticamente aceptables.

50 Como se usa en la presente, el término "portadores farmacéuticos y/o excipientes" significa uno o más sólidos, semisólidos, o diluyente líquido, carga, o auxiliar de formulación de cualquier tipo. Las composiciones farmacéuticas de 5-metil-1,3-bencenodiol o derivados de estos se preparan para ser varios excipientes farmacéuticamente aceptables o suplementos dietéticos aceptables por técnicas bien conocidas en el campo de los productos farmacéuticos y alimentos. Los excipientes farmacéuticamente aceptables o suplementos dietéticos aceptables incluyen nebulizaciones, aerosoles, líquidos, tales como inyecciones, suspensiones, emulsiones, y jarabes, y sólidos tales como tabletas, cápsulas y gránulos, o polvo disuelto o suspendido en líquido.

En la presente invención, los métodos de administración incluyen la inyección o infusión (intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, o subcutánea), y la administración oral, sublingual, y mucosal.

60 La dosificación efectiva de los componentes activos (5-metil-1,3-bencenodiol o derivados) para tratar o prevenir las enfermedades antes mencionadas, sus causas y síntomas es entre 0.1 mg/adulto/día y 12 g/adulto/día, y la dosificación óptima es 50-200 mg/adulto/día.

65 La presente invención revela que el 5-metil-1,3-bencenodiol o los derivados de este, las composiciones farmacéuticas, medicamentos, y alimentos funcionales que los contienen proporcionan una nueva opción para el tratamiento y

prevención de la depresión, síntomas indicativos de depresión, tales como la ansiedad, el estrés, y el deterioro cognitivo y las causas etiológicas de la depresión.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

Los siguientes ejemplos describen los detalles de los compuestos y métodos para la comprensión y suplementos de la invención.

El orcinol (OR), orcinol-1-O- β -D-glucopiranosido (ORG) y el orcinol-1-O-[β -D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 6)]- β -D-glucopiranosido (ORGG) pueden extraerse a partir de *Curculigo orchioides* Garr. Otros derivados de orcinol pueden prepararse por técnicas bien conocidas. El proceso específico es como sigue:

1. El orcinol se puede hacer reaccionar con el producto acetilado correspondiente de azúcares en donde R¹ y/o R² son β -D-glucopiranosilo, β -D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopiranosilo, manosilo, alosilo, galactosilo, ramnopiranosilo, fucosilo, xilosilo, o arabinosilo, y los compuestos correspondientes se pueden obtener a través de la reacción del orcinol con el producto indicado acetilado de azúcares en metanol bajo protección de la luz y por adición de ácido bromhídrico y ácido acético y la agitación durante 1-5 horas a temperatura ambiente. Se obtienen glicósidos acetilados de orcinol. Los glicósidos acetilados de orcinol correspondientes se tratan con metóxido de sodio en metanol durante 1-5 horas a temperatura ambiente para dar los correspondientes glicósidos de orcinol.

2. Cuando R¹ y R² son acilo, orcinol o glicósidos de orcinol se disuelven en piridina por la adición de los anhídridos correspondientes de ácido o cloruros de acilo y 4-dimetilaminopiridina al 10-20% y agitación durante 3-5 horas a 60-120°C. La mezcla se vierte en agua y después se extrae con cloroformo para dar el producto crudo el cual se purifica adicionalmente para dar productos acilados.

3. Cuando R¹ y R² son alquil, orcinol o glicósidos de orcinol se disuelven en tetrahidrofurano o dimetil sulfóxido por adición de hidruro sódico y agitación por 30-60 min. Después de la adición del alquilógeno correspondiente, la mezcla de reacción se agita adicionalmente por 3-5 h, y después se vierte en agua y se extrae con cloroformo para dar un producto crudo el cual se purifica adicionalmente para dar productos aquilados.

EJEMPLO 1

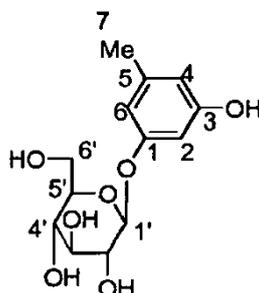
Extracción y aislamiento de orcinol-1-O- β -D-glucopiranosido, orcinol, y orcinol-1-O-[β -D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 6)]- β -D-glucopiranosido

Se recogió *Curculigo orchioides* Garr., se secó a la sombra o al sol, y se hizo un polvo.

El material en polvo (20 kg) se extrajo 3 veces con etanol al 90% (200 kg) bajo reflujo por 2 h cada vez. Los extractos se combinaron y concentraron a aproximadamente 30 kg, y se filtraron después de 12 h de deposición. Los extractos crudos se cromatografiaron después en una columna de resina microporosa D-101 (el peso de la resina fue de 20 kg) y se eluyeron sucesivamente con 100 kg de agua destilada, 60 kg de etanol, al 70%, y 60 kg de etanol al 90%. El eluyente de etanol al 70% y el eluyente de etanol al 90% se recogieron separadamente y se evaporaron hasta secarse para obtener el eluyente de etanol al 70% (340 g) y el eluyente de etanol al 90% (60 g).

El eluyente de etanol al 70% obtenido (340 g) se disolvió en metanol y se absorbió en 400 g de gel de sílice. Después de secarse a temperatura ambiente, el sólido se pulverizó y se tamizó y se sometió a cromatografía en gel de sílice (2.1 kg, 200-300 mesh) y se eluyó con cloroformo-metanol-agua (90:10:1 a 70:30:3, v/v/v) para obtener 26 fracciones. Cada fracción fue de 1500 ml. Las fracciones 2-3 se combinaron, se concentraron, y se cristalizaron a partir de etanol para dar orcinol (5 g). Las fracciones 9-15 se combinaron, se concentraron, y se cristalizaron a partir de etanol para dar orcinol-1-O- β -D-glucopiranosido (50 g). Las fracciones 22-26 se combinaron, se concentraron, y se cristalizaron a partir de etanol para dar orcinol-1-O-[β -D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 6)]- β -D-glucopiranosido (10 g).

Determinación de la estructura: La rotación óptica se midió con un polarímetro SEPA-300; los espectros UV-VIS se obtuvieron con un espectrómetro UV-210A; los datos de IR se recogieron en un espectrómetro Bio-Rad FTS-135 con pastillas de KBr; los espectros de la resonancia magnética nuclear (¹H NMR y ¹³C NMR) se corrieron en un espectrómetro Bruker DRX500 en CDCl₃ con TMS como patrón interno. Los materiales para la cromatografía en columna y cromatografía de capa fina en gel de sílice fueron de Makall Group Co. Ltd. (Qingdao, China).

Nombre: Orcinol-1-O-β-D-glicopiranosido

5

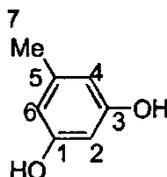
Fórmula molecular: C₁₃H₁₈O₇;

Peso molecular: 286;

Propiedades: Polvo amarillo claro;

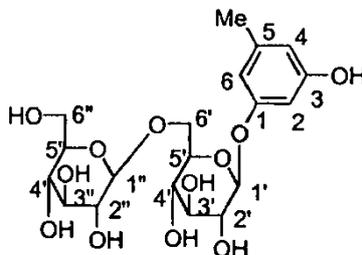
[α]_D -63.03° (c 5.95, metanol);10 UV (metanol): λ_{máx} (logε) 279 (3.19), 273 (3.21), 219 (3.99), 203 (4.58);IR (KBr): ν_{máx} 3495, 3385, 1620, 1596, 1175, 1076, 1032 cm⁻¹;FAB-MS (-): m/z 285 [(M-1)⁻, 100], 123 [(M-1-glc)⁻, 87];¹H-NMR (CD₃OD, 400 MHz) δ_H: 6.41 (1H, s, H-2), 6.36 (1H, s, H-6), 6.29 (1H, s, H-4), 4.84 (1H, d, J = 7.3 Hz, H-1'), 2.22 (3H, s, H-7);15 ¹³C-NMR (CD₃OD, 100 MHz) δ_C: 160.1 (s, C-1), 111.4 (d, C-2), 159.2 (s, C-3), 102.4 (s, C-4), 141.3 (s, C-5), 110.0 (d, C-6), 21.6 (q, C-7), 102.5 (d, C-1'), 75.0 (d, C-2'), 78.1 (d, C-3'), 71.6 (d, C-4'), 78.2 (d, C-5'), 62.7 (t, C-6').**Nombre: Orcinol**

20

Fórmula molecular: C₇H₈O₂;

Peso molecular: 124;

Propiedades: Polvo blanco-amarillo claro;

UV (metanol): λ_{máx} (logε) 281 (3.20), 275 (3.22), 204 (4.59);IR (KBr): ν_{máx} 3313, 1629, 1601, 1512, 1477, 1332, 1208, 1148, 1032, 973 cm⁻¹;EI-MS (70 ev): m/z 125 [(M+1)⁺, 8], 124 [M⁺, 100], 123 [(M-1)⁺, 55], 107[(M+1-18)⁺, 7], 95 (12), 77(8);¹H-NMR (CD₃OD, 400 MHz) δ_H: 6.14 (2H, brs, H-2, 6), 6.10 (1H, brs, H-4), 2.16 (3H, s, H-7);30 ¹³C-NMR (CD₃OD, 100 MHz) δ_C: 159.2 (s×2, C-1, 3), 108.7 (d×2, C-2, 6), 108.7 (s, C-4), 141.2 (s, C-5), 21.5 (q, C-7).**Nombre: Orcinol-1-O-[β-D-glicopiranosil-(1→6)]-β-D-glicopiranosido**

35

Fórmula molecular: C₁₉H₂₈O₁₂;

Peso molecular: 448;

Propiedades: Polvo blanco amorfo;

M.p.: 117-119°C;

40 FAB-MS (-) (m/z): 447 [M-1]⁻, 123 [M-1-2glc];

^1H NMR (400MHz, CD_3OD) δ_{H} : 6.43 (1H, brs, H-2), 6.40 (1H, brs, H-4), 6.28 (1H, brs, H-6), 4.82 (1H, d, $J = 7.30$ Hz, H-1'), 4.40 (1H, d, $J = 7.73$ Hz, H-1''), 2.21 (3H, s, H-7);

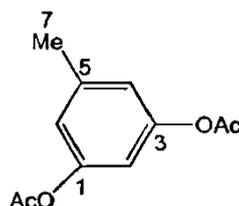
^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ_{C} : 160.0 (s, C-1), 102.0 (d, C-2), 159.2 (s, C-3), 111.2 (d, C-4), 141.3 (s, C-5), 109.8 (d, C-6), 21.7 (s, C-7), 102.1 (d, C-1'), 74.8 (d, C-2'), 77.7 (d, C-3'), 71.3 (s, C-4'), 77.5 (d, C-5'), 69.6 (t, C-6'), 104.6 (d, C-1''), 75.2 (d, C-2''), 77.8 (d, C-3''), 71.5 (d, C-4''), 77.9 (d, C-5''), 62.6 (t, C-6'').

EJEMPLO 2

Preparación de 1,3-O-diacetilorcinol

Un matraz de fondo redondo de 100 ml se cargó con piridina (40 ml) y orcinol (1.24 g, 0.01 mol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente y se añadió anhídrido acético (3 ml) en forma de gotas. Después de agitarse por 24 h a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió en 200 ml de agua helada. La mezcla se extrajo con etil acetato (3×50 ml). Las capas orgánicas se combinaron, se lavaron 3 veces con ácido clorhídrico al 5%, 3 veces con NaHCO_3 saturado ac., y 3 veces con cloruro de sodio saturado, se secaron sobre Na_2SO_4 , se filtraron, y se evaporaron hasta secarse al vacío. El producto crudo se sometió a cromatografía en gel de sílice y se eluyó con éter de petróleo-acetona (90:10, v/v) para dar 1, 3-O-diacetilorcinol (1.87 g, rendimiento 90%).

Nombre: 1,3-O-Diacetilorcinol



Fórmula molecular: $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{O}_4$;

Peso molecular: 208;

Propiedades: Aceite incoloro

Datos estructurales de 1, 3-O-Diacetilorcinol:

ESI-MS (+) m/z : 231 $[\text{M}+\text{Na}]^+$;

IR (KBr) $\nu_{\text{máx}}$: 1769, 1602, 1592, 1466, 1434, 1369, 1292, 1198, 1124, 1036 cm^{-1} ;

^1H NMR (CDCl_3) δ_{H} : 6.78 (2H, s, $J = 1.9$ Hz, H-4, 6), 6.71 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-2), 2.30 (3H, s, H-7), 2.19 (s, 6H);

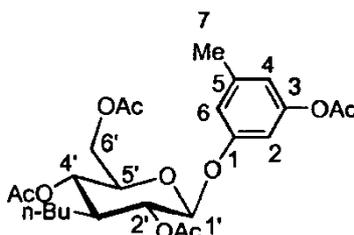
^{13}C NMR (CDCl_3) δ_{C} : 169.0 (s, CH_3CO), 169.0 (s, CH_3CO), 150.9 (s, C-1), 150.9 (s, C-3), 140.3 (s, C-5), 119.7 (d, C-4), 119.7 (d, C-6), 112.5 (d, C-2), 21.2 (q, C-7), 20.9 (q, CH_3CO), 20.9 (q, CH_3CO).

EJEMPLO 3

Preparación de 3-O-acetil-orsinol-1-O-(2, 3, 4, 6-tetraacetil)- β -D-glucopiranosido

El orcinol (286 mg) se disolvió en piridina (20 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente y se añadió anhídrido acético (2.5 g, 25 mmol) en forma de gotas. Después de agitarse por 24 h a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió en 50 ml de agua helada. La mezcla se extrajo con etil acetato (3×20 ml). Las capas orgánicas se combinaron, se lavaron 3 veces con ácido clorhídrico al 5%, 3 veces con NaHCO_3 saturado ac., y 3 veces con cloruro de sodio saturado, se secaron sobre Na_2SO_4 , se filtraron, y se evaporaron hasta secarse al vacío. El producto crudo se sometió a cromatografía en gel de sílice para dar 3-O-acetil-orsinol-1-O-(2, 3, 4, 6-tetraacetil)- β -D-glucopiranosido (421 mg, rendimiento 85%).

Nombre: 3-O-acetil-orsinol-1-O-(2, 3, 4, 6-tetraacetil)- β -D-glucopiranosido



Fórmula molecular: $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_{12}$;

Peso molecular: 496;

Propiedades: Polvo blanco amorfo;

ESI-MS (+) m/z : 519 $[M+Na]^+$;

IR (KBr) $\nu_{\text{máx}}$: 1759, 1625, 1590, 1373, 1241, 1211 cm^{-1} ;

^1H NMR (CDCl_3) δ_{H} : 6.68 (1H, s, $J = 1.9$ Hz), 6.63 (1H, s,

$J = 1.9$ Hz), 6.54 (1H, s, $J = 1.9$ Hz), 5.30–5.22 (m, 2H), 5.14 (t, 1H, $J = 9.7$ Hz), 5.06 (1H, d, $J = 7.5$ Hz), 4.28–4.14 (m, 2H), 3.89–3.85 (m, 1H), 2.31 (s, 3H), 2.27 (s, 3H), 2.08 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 2.04 (s, 3H), 2.03 (s, 3H);

^{13}C NMR (CDCl_3) δ_{C} : 170.6 (s, CH_3CO), 170.2 (s, CH_3CO), 169.4 (s, CH_3CO), 169.3 (s, CH_3CO), 157.2 (s, C-3), 151.1 (s, C-1), 140.6 (s, C-5), 117.2 (d, C-6), 115.1 (d, C-4), 107.6 (d, C-2), 98.8 (s, C-1'), 72.6 (d, C-3'), 72.0 (d, C-5'), 71.0 (d, C-2'), 68.2 (d, C-4'), 62.0 (t, C-6'), 21.5 (q, C-7), 21.1 (q, CH_3CO), 20.6 (q, $\text{CH}_3\text{CO}\times 4$).

EJEMPLO 4

Preparación de orcinol-1-tetra-O-acetil-ramnopiranososa

La tetra-O-acetil-ramnopiranososa (36 g) se disolvió en una mezcla (100 ml) de ácido bromhídrico y ácido acético. La mezcla de reacción se agitó por 5 h bajo protección de la luz. La mezcla de reacción se vertió en 500 ml de agua helada y se extrajo con etil acetato (3×500 ml). Las capas orgánicas se combinaron, se lavaron 3 veces con agua, 3 veces con NaHCO_3 ac. al 5%, y 3 veces con cloruro de sodio saturado, se secaron sobre Na_2SO_4 , se filtraron, y se evaporaron hasta secarse al vacío para dar bromuro de tetra-O-acetil-ramnopiranosilo.

El orcinol (12.4 g) se disolvió en cloroformo (20 ml). La mezcla de reacción se agitó y se añadió solución de hidróxido de sodio al 5% (20 ml). Cuando la temperatura se elevó hasta 50°C , la solución de bromuro de tetra-O-acetil-ramnopiranosilo (0.12 mol) disuelta en cloroformo se añadió en forma de gotas. La mezcla de reacción se agitó a 50°C hasta que la reacción se completó, después se vertió en 150 ml de agua helada. El pH se ajustó a 7 con ácido clorhídrico al 5%. La mezcla se extrajo con acetato de etilo. Las capas orgánicas se combinaron, se lavaron con cloruro de sodio saturado, se secaron sobre Na_2SO_4 , se filtraron, y se evaporaron hasta secarse al vacío. El producto crudo se sometió a cromatografía en gel de sílice y se eluyó con etil acetato-éter de petróleo (5:1, v/v) para dar orcinol-1-tetra-O-acetil-ramnopiranososa (1.87g, rendimiento 90%).

EJEMPLO 5

Preparación de orcinol-1-ramnopiranososa

El metóxido de sodio (0.18 g) se añadió a una solución de orcinol-1-tetra-O-acetil-ramnopiranososa (4.14 g) en metanol (20 ml). Después de agitarse por 2 h a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se neutralizó con ácido clorhídrico al 5%. El metanol se eliminó al vacío después de la adición de agua destilada (50 ml). La mezcla se extrajo con n-butanol (3×50 ml). Las capas orgánicas se combinaron, se lavaron con cloruro de sodio saturado, se secaron sobre Na_2SO_4 , se filtraron, y se evaporaron hasta secarse al vacío. El producto crudo se cristalizó a partir de etanol para dar orcinol-1-ramnopiranososa.

EJEMPLO 6

El orcinol-1-O- β -D-glucopiranosido preparado de acuerdo al EJEMPLO 1 se disolvió en agua para inyección. Después de la filtración bacteriana (filtración 0.2–0.45 μm), la solución se sub-ensasó en viales, se selló, y esterilizó para dar la inyección de orcinol-1-O- β -D-glucopiranosido.

EJEMPLO 7

El orcinol-1-O- β -D-glucopiranosido preparado de acuerdo al EJEMPLO 1 se disolvió en agua libre de bacterias para inyección. La solución se filtró por filtración a vacío usando un embudo Buchner, se filtró con un filtro de precisión (filtración 0.2–0.45 μm) bajo condiciones libres de bacterias, se sub-ensasó en ampulas, y se selló después de la liofilización para dar un polvo liofilizado para inyección de orcinol-1-O- β -D-glucopiranosido.

EJEMPLO 8

El orcinol-1-O- β -D-glucopiranosido preparado de acuerdo al EJEMPLO 1 se mezcló con excipientes para dar la inyección en polvo de orcinol-1-O- β -D-glucopiranosido. La relación en peso de la primera a la segunda fue de 9:1.

EJEMPLO 9

El orcinol-1-O- β -D-glucopiranosido se preparó de acuerdo al EJEMPLO 1. Las tabletas, cápsulas, y gránulos se prepararon mezclando el orcinol-1-O- β -D-glucopiranosido con excipientes en relaciones en peso del compuesto y excipientes entre 1:5 y 1:10.

EJEMPLO 10

El orcinol-1-O-β-D-glucopiranosido se preparó de acuerdo al EJEMPLO 1. Se preparó el líquido oral de orcinol-1-O-β-D-glucopiranosido de acuerdo con los métodos convencionales.

EJEMPLO 11

El orcinol-1-O-β-D-glucopiranosido se preparó de acuerdo al EJEMPLO 1. Las cápsulas y gránulos se prepararon mezclando el orcinol-1-O-β-D-glucopiranosido con excipientes en una relación en peso de 5:1.

EJEMPLO 12

Se mezclaron el orcinol-1-O-β-D-glucopiranosido (12.4 g) preparado de acuerdo al EJEMPLO 1, almidón (600 g), lactosa (200 g), mentol (5 g) y almidón de carboximetil sodico (183 g) y se prepararon posteriormente para ser comprimidos como alimentos funcionales.

[0049] Para una mejor comprensión de la esencia de la invención, los efectos farmacológicos de las composiciones farmacéuticas que contienen orcinol o sus derivados y portadores o excipientes farmacéuticos fueron estudiados.

Experimento 1**Estudio farmacológico de ORG y OR****1 Efectos antidepresivos de ORG y OR con la relación dosis-efecto en la prueba de suspensión de cola (TST) y la prueba de natación forzada (FST) en ratas y ratones****1.1 Métodos experimentales**

Se usaron ratones Kunming y ratas Sprague-Dawley (Certificado Número: A4CXX(Chuan)2003-16) del Instituto de Animales Experimentales, Hospital del Pueblo de la Provincia de Sichuan. Los ratones tenían 3-4 semanas de edad al comienzo de los experimentos y pesaban 25-30 g. Las ratas pesaban 250-300g. El número de animales en cada grupo se muestra en las Tablas 1-5. El orcinol (OR), orcinol-1-O-β-D-glucopiranosido (ORG), orcinol-1-O-[β-D-glucopiranosil-(1→6)]-β-D-glucopiranosido (ORGG), 1,3-O-diacetilorcino (OR-2Ac), y 3-O-acetil-orcino-1-O-(2, 3, 4, 6-tetraacetil)-β-D-glucopiranosido (ORG-5Ac) se prepararon de acuerdo a los EJEMPLOS 1, 2, y 3. Los animales se dividieron en un grupo experimental con diferentes dosis, un grupo del vehículo, y dos grupos de control positivo que contienen un grupo de la imipramina (Sigma, Lote Núm.106k1588) y un grupo de venlafaxina (Wuhan Yuancheng Co., Ltd., Lote Núm.200701001).

Fármacos: ORG se disolvió en solución salina normal. En los controles positivos, se suspendió la imipramina o la venlafaxina en solución salina normal que contiene CMC-sodio al 0.5 % por sonicación. La dosis de imipramina o venlafaxina fue de 15 mg/kg. El volumen de inyección i.g. o i.p. fue 0.1 ml/10 g en ratones y 1 ml/100 g o 0.1 ml/100 g en ratas.

FST en ratones: El aparato consistió en un cilindro (24 cm alto ×15 cm diámetro) lleno de agua hasta 17 cm de profundidad, a una temperatura de 24±2°C. Todos los medicamentos y vehículos se administraron 24 h y 5 h antes del comienzo de la FST. El tiempo de inmovilidad de los ratones durante los últimos 4 minutos del período total de 6 min se registró manualmente.

FST en ratas: Hubo dos sesiones de natación en cada experimento. Primero se realizó una prueba previa sesión de natación durante 15 min y el tiempo de inmovilidad durante los primeros períodos de 5 min se registró manualmente. Si el tiempo de inmovilidad fue demasiado largo o demasiado corto, se rechazó la rata. Todos los medicamentos y los vehículos se administraron dos veces en 0 y 19 h después de la prueba previa sesión de natación. Veinticuatro horas después de la prueba previa sesión de natación, el tiempo de inmovilidad durante la sesión de prueba de 5 min se registró manualmente.

TST en ratones: Todos los medicamentos y los vehículos se administraron 24 h y 5 h antes del inicio de la TST. Los ratones se suspendieron por una cinta adhesiva para fijar la cola a los 2 cm de la punta de la cola a una barra horizontal que se coloca 50 cm por encima del piso de la cámara de prueba. El tiempo de inmovilidad durante 6 min se registró manualmente.

Análisis de datos: Los resultados se expresan como la media ± SEM y se analizaron con el programa SPSS 11. Las comparaciones entre grupos se realizaron mediante análisis unidireccional de varianza (ANOVA) seguido de al menos la prueba de la diferencia significativa (LSD). El nivel de significación se fijó en $P < 0.05$. Los valores ED₅₀ se calcularon usando el programa GraphPad Prism.

1.2 Resultados

1.2.1 Efecto antidepresivo de ORG (i.g.) en la FST en ratas

5

Tabla 1. Relación tiempo de inmovilidad–dosis de ORG (i.g.) en la FST en ratas

Grupo	Dosis (mg/kg)	Número de animales	Tiempo(s) de inmovilidad (media ± SEM)	Valor P
NS	1 ml/100 g	30	179.50 ± 5.32	
ORG	0.0625	10	187.20 ± 11.97	0.60
	0.125	20	181.50 ± 8.19	0.86
	0.1875	20	138.90 ± 13.31*	0.006
	0.25	20	121.05 ± 9.44*	<0.001
	0.5	20	113.70 ± 6.74*	<0.001
	1	20	96.87 ± 7.40*	<0.001
	2	20	91.60 ± 7.06*	<0.001
	4	20	84.40 ± 9.20*	<0.001
	8	20	94.30 ± 9.86*	<0.001
	16	20	91.40 ± 11.36*	<0.001
	32	19	107.26 ± 10.74*	<0.001
	64	20	105.90 ± 19.77*	<0.001
	128	20	103.00 ± 17.42*	<0.001
Venlafaxina	15	10	100.80 ± 9.84*	<0.001
Imipramina	15	29	92.72 ± 7.09*	<0.001

*P <0.05 (ANOVA unidireccional seguida de LSD).

10

Se evaluó la relación dosis–efecto de ORG administrado oralmente en ratas. El ORG disminuyó el tiempo de inmovilidad y el efecto fue significativamente dependiente de la dosis (Tabla 1). La dosis de mejor eficacia fue 4 mg/kg, y la ED₅₀ fue aproximadamente 0.22 mg/kg.

1.2.2 Efecto antidepresivo de ORG (i.g.) en la FST en ratones

15

En el presente estudio, se administró ORG i.g. a las 24 h y 5 h antes del comienzo de la FST. El tiempo de inmovilidad disminuyó y el efecto fue significativamente dependiente de la dosis (Tabla 2). La dosis de mejor eficacia fue 3 mg/kg, y la ED₅₀ fue aproximadamente 0.22 mg/kg

Tabla 2. Relación del tiempo de inmovilidad–dosis de ORG (i.g.) en la FST en ratones

Grupo	Dosis (mg/kg)	Número de animales	Tiempo(s) de inmovilidad (media ± SEM)	Valor P
NS	0.1 ml/10 g	108	178.50 ± 3.04	
ORG	0.093	40	169.35 ± 4.32	0.26
	0.186	30	155.30 ± 9.19*	0.01
	0.3725	30	137.57 ± 6.41*	<0.001
	0.75	60	139.45 ± 7.04*	<0.001
	1.5	60	127.23 ± 6.63*	<0.001
	3	78	114.41 ± 6.23*	<0.001
	6	70	129.76 ± 5.99*	<0.001
	12	70	122.71 ± 5.56*	<0.001
	24	70	121.57 ± 6.13*	<0.001

Grupo	Dosis (mg/kg)	Número de animales	Tiempo(s) de inmovilidad (media ± SEM)	Valor P
	48	69	135.36 ± 4.60*	<0.001
	96	50	145.34 ± 5.39*	<0.001
Venlafaxina	15	78	134.28 ± 3.76*	<0.001
Imipramina	15	79	131.20 ± 3.91*	<0.001

*P <0.05 (ANOVA unidireccional seguida de LSD).

1.2.3 Efecto antidepresivo de ORG (i.g.) en la TST en ratones

5 El ORG se administró i.g. a las 24 h y 5 h antes del comienzo de la TST. El tiempo de inmovilidad disminuyó y el efecto fue significativamente dependiente de la dosis (Tabla 3). La dosis de mejor eficacia fue 12 mg/kg, y la ED₅₀ fue aproximadamente 0.73 mg/kg.

Tabla 3. Relación tiempo de inmovilidad–dosis de ORG (i.g.) en la TST en ratones

Grupo	Dosis (mg/kg)	Número de animales	Tiempo(s) de inmovilidad (media ± SEM)	Valor P
NS	0.1 ml/10 g	38	161.18 ± 5.47	
ORG	0.1875	40	161.70 ± 6.89	0.95
	0.375	40	155.68 ± 6.77	0.52
	0.5	30	125.30 ± 6.93*	<0.001
	0.75	30	117.33 ± 6.56*	<0.001
	1.5	30	109.27 ± 6.81*	<0.001
	3	30	98.07 ± 5.95*	<0.001
	6	30	89.73 ± 5.02*	<0.001
	12	30	77.67 ± 5.33*	<0.001
	24	30	91.03 ± 7.44*	<0.001
	48	20	100.20 ± 10.46*	<0.001
96	19	107.68 ± 8.85*	<0.001	
Venlafaxina	15	20	102.85 ± 9.34*	<0.001
Imipramina	15	40	105.65 ± 5.71*	<0.001

*P <0.05 (ANOVA unidireccional seguida de LSD)

1.2.4 Efecto antidepresivo de OR (i.p.) en la FST en ratones

10

En este estudio, se administró OR i.p. a las 24 h y 5 h antes del comienzo de la FST. El tiempo de inmovilidad disminuyó (Tabla 4).

Tabla 4. Efecto de OR (i.p.) en el tiempo de inmovilidad en la FST en ratones

Grupo	Dosis (mg/kg)	Número de animales	Tiempo(s) de inmovilidad (media ± SEM)	Valor P
NS	0.1 ml/10 g	9	156.56 ± 19.78	
o	10	10	82.40 ± 10.64*	0.005
Imipramina	15	13	96.38 ± 12.04	0.15

*P <0.05 (ANOVA unidireccional seguida de LSD)

15

1.2.5 Efecto antidepresivo de los derivados de ORG (i.p.) en la FST en ratones

20

En este estudio, los derivados de ORG (ORGG, OR–2Ac, y ORG–5Ac) se administraron por inyección intraperitoneal (i.p.) a las 24 h y 5 h antes del comienzo de la FST. Todos los derivados de ORG disminuyeron el tiempo de inmovilidad de ratones en el modelo FST (Tabla 5).

Tabla 5 Efecto de los derivados de ORG (i.p.) en el tiempo de inmovilidad en FST en ratones

Grupo	Dosis (mg/kg)	Número de animales	Tiempo(s) de inmovilidad (media \pm SEM)	Valor P
NS	0.1 ml/10 g	10	213.60 \pm 3.77	
ORGG	10	10	184.20 \pm 11.29*	0.012
OR-2Ac	10	10	170.10 \pm 6.37*	<0.001
ORG-5Ac	10	10	178.90 \pm 9.61*	0.003
Imipramina	15	10	146.00 \pm 6.46*	<0.001

*P <0.05 (ANOVA unidireccional seguida de LSD)

1.3 Índice terapéutico (TI) de actividad antidepresiva de ORG

5 En el ensayo de toxicidad aguda, cuando los ratones Kunming se administraron con una dosis de 1750 mg/kg de ORG, concentración saturada, la investigación etológica e histológica no encontraron nada anormal. Por tanto la dosis tóxica media (TD₅₀) de ORG fue mayor que 1750 mg/kg.

10 El índice terapéutico (TI) de ORG en ratones en la FST = TD₅₀ ÷ ED₅₀ = > 1750 mg/kg = 0.22 mg/kg = >7955.

El índice terapéutico (TI) de ORG en ratones en la TST = ED₅₀ ÷ ED₅₀ = >1750 mg/kg = 0.73 mg/kg = >2397.

Experimento 2

15 **Efecto antidepresivo del ORG con el tiempo de evolución-dependencia en la prueba de natación forzada (FST) en ratones**

2.1 Métodos experimentales

20 Se usaron ratones Kunming (Certificado Número: A4CXK(Chuan)2003-16) del Instituto de Animales Experimentales, Hospital del Pueblo de la Provincia de Sichuan. Estos tenían 3-4 semanas de edad al comienzo de los experimentos y pesaban 25-30 g. El número de animales en cada grupo se muestra en las Tablas 6-8. El ORG se preparó como se describe en el Ejemplo 1. Los animales se dividieron en grupos experimentales con diferentes dosis y grupos control del vehículo.

25

2.1.1 Administración y Diseño Experimental:

El ORG se disolvió en solución salina normal (NS) a diferentes concentraciones. Todos los medicamentos y sus vehículos se administraron oralmente en un volumen de 0.1 ml/10 g.

30

2.1.2 Frecuencia de administración:

Los animales se trataron con ORG (3 mg/kg) o NS 1 a 5 veces por vía oral dentro de 24 h. El tiempo de inmovilidad se registró 5 h después del último tratamiento con ORG.

35

2.1.3 Comparación de diferentes dosis y frecuencias de administración:

Los ratones se trataron una vez con 6 mg/kg de ORG o dos veces con 3 mg/kg de ORG dentro de 24 h. El tiempo de inmovilidad se registró 5 h después del último tratamiento con ORG.

40

2.1.4 Efecto del ORG en la actividad antidepresiva (hora de inicio y el tiempo de mantenimiento):

Los ratones se trataron con ORG (3 mg/kg). Diecinueve horas después de la administración, se les dio otra dosis de ORG (3 mg/kg).

45

El tiempo de inmovilidad se registró a 2.5 h, 5 h, 24 h, 72 h y 2 semanas después de la segunda administración.

2.1.5 Análisis de datos:

50 Los resultados se expresan como media \pm SEM (%). Los tiempos de inmovilidad de los grupos NS se establecieron como el 100%, y el efecto antidepresivo de cada grupo se calculó basándose en el grupo NS. Un mejor efecto antidepresivo se muestra como un valor de porcentaje inferior. Este método de normalización permitió comparaciones entre los grupos experimentales. El análisis estadístico fue la ANOVA unidireccional seguida de la prueba LSD. Un valor de P <0.05 se consideró significativo.

55

2.2. Resultados

2.2.1 Efecto antidepresivo del ORG en diferentes frecuencias de administración dentro de las 24 h en la FST en ratones.

El ORG (3 mg/kg) se administró 1–5 veces dentro de las 24 h. El tiempo de inmovilidad se redujo significativamente en los grupos tratados 2 o 3 veces con ORG (Tabla 6). Los resultados muestran que el mejor efecto del medicamento se obtuvo después de 2 o 3 veces de administración dentro de las 24 h a intervalos de 10–19 h.

Tabla 6. Frecuencia de administración y efecto antidepresivo del ORG en la FST en ratones

Grupo	Dosis (mg/kg)	Frecuencia de administración en 24 h	Número de animales	Inmovilidad (%NS) (media ± SEM)	Valor P
NS			10	100	
	3	1	10	83.57 ± 6.66	0.098
	3	2	10	64.98 ± 5.96*	0.001
ORG	3	3	10	65.65 ± 9.67*	0.001
	3	4	10	89.81 ± 6.50	0.302
	3	5	10	91.26 ± 5.93	0.375

*P < 0.05 (ANOVA unidireccional seguida de LSD)

2.2.2 Comparación del efecto antidepresivo entre diferentes frecuencias de administración con la misma dosis final dentro de las 24 h

Cuando los ratones se trataron una vez con 6 mg/kg de ORG o dos veces con 3 mg/kg de ORG en 24 h, los tiempos de inmovilidad disminuyeron en todos los grupos (Tabla 7). Pero un mejor efecto se muestra en los ratones tratados con 3 mg/kg de ORG en 24 h.

Tabla 7. La misma dosis administrada dos veces tuvo un mejor efecto antidepresivo que cuando se administró una vez dentro de las 24 h

Grupo	Dosis (mg/kg)	Frecuencia de administración en 24 h	Número de animales	Inmovilidad (%NS) (media ± SEM)	Valor P
NS			31	100	
ORG		2	9	64.03 ± 7.20*	<0.001
ORG	6	1	30	80.70 ± 4.64*	=0.002

*P < 0.05 (ANOVA unidireccional seguida de LSD)

2.2.3 Efecto antidepresivo del ORG con rápido inicio y mantenimiento de larga duración en la FST

A los ratones recibieron el ORG por vía oral (3 mg/kg). Diecinueve horas más tarde, se administró otra dosis de ORG (3 mg / kg). El tiempo de inmovilidad se registró a las 2.5 h, 5 h, 24 h, 72 h y 2 semanas después de la segunda administración. El efecto antidepresivo de ORG ocurrió rápidamente a las 2.5 h después de la segunda administración. El mejor efecto se produjo a las 24 h después de la segunda administración y el efecto se mantuvo durante al menos 72 h (Tabla 8). Los resultados muestran que el ORG tiene un inicio rápido del efecto antidepresivo que dura por lo menos 72 h.

Tabla 8 Relación tiempo–respuesta para el ORG en la FST en ratones

Grupo	Dosis (mg/kg)	Tiempo después de la última administración (h)	Número de animales	Inmovilidad (%NS) (media ± SEM)	Valor P
NS			50	100	
ORG	6	2.5	20	73.63 ± 4.21*	<0.001
	6	5	20	71.92 ± 6.05*	0.001
	6	24	20	62.83 ± 6.59*	<0.001
	6	72	20	77.33 ± 6.07*	0.002

Grupo	Dosis (mg/kg)	Tiempo después de la última administración (h)	Número de animales	Inmovilidad (%NS) (media ± SEM)	Valor P
	6	2 (semanas)	20	99.54 ± 5.54	0.954

*P <0.05 (ANOVA unidireccional seguida de LSD)

Experimento 3

Efecto antidepressivo del ORG en el modelo de estrés crónico impredecible leve en ratones

5

El estrés crónico impredecible leve (CMS) es considerado como un modelo de depresión que tiene la misma etiología de estrés crónico que exacerba o causa la depresión en los seres humanos. Una variedad de tensiones leves impredecibles como la restricción a la bebida o comida, la abstinencia, y la natación, puede llevar a los animales a la falta de respuesta a la recompensa (por ejemplo, preferencia por bebidas con azúcar). El tiempo de inmovilidad se incrementa significativamente en la FST y TST después de la exposición al CMS, lo que indica una depresión más severa. Así, el CMS se usa ampliamente para evaluar los efectos de los antidepressivos en la depresión causada por el estrés..

10

3.1. Métodos experimentales

15

Se usaron ratones Kunming (Certificado Número: A4CXK(Chuan)2003–16) del Instituto de Animales Experimentales, Hospital del Pueblo de la Provincia de Sichuan. Estos tenían 3–4 semanas de edad al comienzo de los experimentos y pesaban 25–30 g. El número de animales en cada grupo se muestra en las Tablas 9 y 10. El ORG se preparó como se describe en el Ejemplo 1. Los animales se dividieron en grupos experimentales con diferentes dosis, un grupo control del vehículo, y un grupo de imipramina (Sigma, Lote Núm. 106k1588) como control positivo.

20

Modelo CMS: El estrés crónico leve al que fueron sometidos los ratones Kunming fue la inversión del ritmo circadiano, luz continua, frío, ropa de cama húmeda, jaulas de inclinación, restricción a la comida y agua, y la abstinencia. Sólo se aplicó uno de estos estreses a cada ratón al azar dentro de las 24 h, y la misma tensión no apareció dos veces consecutivas. El período de estrés duró 8 semanas. En la última semana, se administró el ORG oralmente una vez al día durante 7 días consecutivos. El ensayo de comportamiento se llevó a cabo 30 min después de la última administración. El parámetro de la prueba fue el tiempo de inmovilidad en la FST y TST en los ratones del modelo del CMS. Los métodos de la FST y TST y el análisis de datos fueron los descritos anteriormente.

25

3.2. Resultados

30

3.2.1 Efecto antidepressivo del ORG en la FST en ratones del modelo de CMS

El ORG disminuyó significativamente el tiempo de inmovilidad en la FST, y los efectos fueron significativamente dependientes de la dosis (Tabla 9). La mejor dosis para el efecto antidepressivo fue de 20 mg/kg, y la ED₅₀ fue de 0.81 mg/kg.

35

Tabla 9. Relación tiempo de inmovilidad–dosis de ORG en la FST en ratones del modelo CMS

Grupo	Dosis (mg/kg)	Número de animales	Tiempo(s) de inmovilidad (media ± SEM)	Valor P
NS	0.1 ml/10 g	28	208.00 ± 5.57	
	1.25	10	190.90 ± 12.94	0.255
	2.5	11	177.00 ± 11.78*	0.033
ORG	5	10	177.50 ± 12.39*	0.043
	10	19	170.84 ± 10.48*	0.002
	20	20	164.95 ± 11.36*	<0.001
Imipramina	15	10	166.00 ± 13.84*	0.005

*P < 0.05 (ANOVA unidireccional seguida de LSD)

3.2.2 Efecto antidepressivo del ORG en la TST en ratones del modelo de CMS

40

El ORG disminuyó significativamente el tiempo de inmovilidad en la TST, y los efectos fueron significativamente dependientes de la dosis (Tabla 10). La mejor dosis para el efecto antidepressivo fue de 20 mg/kg, y la ED₅₀ fue de aproximadamente 4.22 mg/kg.

45

Tabla 10. Relación tiempo de inmovilidad–dosis de ORG en la TST en ratones del modelo CMS

Grupo	Dosis (mg/kg)	Número de animales	Tiempo(s) de inmovilidad (media ± SEM)	Valor P
NS	0.1 ml/10 g	16	185.25 ± 6.66	
ORG	1.25	10	171.20 ± 13.02	0.392
	5	10	146.30 ± 11.66*	0.018
	10	16	145.31 ± 12.41*	0.006
	20	16	140.69 ± 14.14*	0.002
Imipramina	15	9	131.22 ± 10.61*	0.002

*P < 0.05 (ANOVA unidireccional seguida de LSD)

3.3 TI de ORG en la TST y FST en ratones del modelo de CMS

En la prueba de toxicidad aguda, cuando a los ratones se les administró ORG a una dosis de 1750 mg/kg, concentración saturada, la investigación etológica e histológica no encontró anomalías. Por tanto la dosis tóxica media (TD₅₀) de ORG fue mayor que 1750 mg/kg.

El índice terapéutico (TI) de ORG en ratones CMS en FST = $>1750 \text{ mg/kg} \div 0.81 \text{ mg/kg} = >2160$.

El índice terapéutico (TI) de ORG en ratones CMS en TST = $\text{TD}_{50} \div \text{ED}_{50} = >1750 \text{ mg/kg} \div 4.22 \text{ mg/kg} = >415$.

Experimento 4

Efecto antidepresivo de ORG en el modelo de oscuridad constante (DD) en ratones

El modelo DD es un modelo etiológico reportado recientemente que se usa para estudiar la depresión asociada con el trastorno del ritmo circadiano. En este modelo, el ritmo circadiano del animal se cambia en una condición continua oscuridad–cría que induce o exacerba la depresión. Por tanto, en este estudio se usó el modelo DD para causar o exacerbar la depresión y el efecto antidepresivo de ORG fue después probado en la FST y la TST.

4.1 Métodos experimentales

Se usaron ratones Kunming (Certificado Número: A4CXK(Chuan)2003–16) del Instituto de Animales Experimentales, Hospital del Pueblo de la Provincia de Sichuan. Estos tenían 3–4 semanas de edad al comienzo de los experimentos y pesaban 25–30 g. El número de animales en cada grupo se muestra en las Tablas 11 y 12. ORG se preparó como se describe en el Ejemplo 1. Los animales se dividieron en grupos experimentales con diferentes dosis, los grupos de control del vehículo, y un grupo de imipramina (Sigma, Lote Núm.106k1588) como control positivo.

Modelo DD en ratones: Los ratones se mantuvieron bajo condiciones de 24 h de oscuridad continua. La sustitución de relleno, adición de comida y agua, y otras operaciones se emprendieron en la condición de que la intensidad de la luz roja fue menor que 1.0 lux. El periodo de esta condición duró 28 días. En la última semana, el ORG se administró por vía oral una vez al día durante 1 semana. La FST y TST se llevaron a cabo 30 min después de la última administración. Los métodos y análisis de datos se describieron anteriormente.

4.2 Resultados

4.2.1 Efecto antidepresivo del ORG en la FST en ratones del modelo DD

El ORG disminuyó significativamente el tiempo de inmovilidad en la FST, y los efectos fueron significativamente dependientes de la dosis (Tabla 11). La dosis de mejor eficacia fue 10 mg/kg, y la ED₅₀ fue aproximadamente 1.48 mg/kg.

Tabla 11. Relación tiempo de inmovilidad–dosis del ORG en la FST en ratones en el modelo DD

Grupo	Dosis (mg/kg)	Número de animales	Tiempo(s) de inmovilidad (media ± SEM)	Valor P
NS	0.1 ml/10 g	32	193.13 ± 5.57	
ORG	1.25	11	180.27 ± 10.36	0.306
	2.5	11	174.27 ± 11.89	0.134
	5	10	161.70 ± 14.89*	0.016
	10	21	151.86 ± 8.89*	<0.001
	40	10	156.60 ± 13.86*	0.005
Imipramina	15	11	161.22 ± 13.08*	0.019

*P <0.05 (ANOVA unidireccional seguida de LSD)

4.2.2 Efecto antidepresivo del ORG en la TST en ratones del modelo DD

5

El ORG disminuyó significativamente el tiempo de inmovilidad en la TST, y los efectos fueron significativamente dependiente de la dosis (Tabla12). La dosis de mejor eficacia fue 20 mg/kg, y la ED₅₀ fue aproximadamente 1.75 mg/kg.

Tabla 12. Relación tiempo de inmovilidad–dosis de ORG en la TST en ratones del modelo DD

Grupo	Dosis (mg/kg)	Número de animales	Tiempo(s) de inmovilidad (media ± SEM)	Valor P
N.S.	0.1 ml/10 g	16	185.25 ± 6.66	
ORG	1.25	10	171.20 ± 13.02	0.392
	5	10	146.30 ± 11.66*	0.018
	10	16	145.31 ± 12.41*	0.006
	20	16	140.69 ± 14.138*	0.002
Imipramina	15	9	131.22 ± 10.61*	0.002

*P <0.05 (ANOVA unidireccional seguida de LSD)

10

Experimento 5

Efecto antidepresivo del ORG en el modelo de privación del sueño (SD) en ratones

15

El trastorno del sueño es uno de los síntomas de la depresión. Este puede ser uno de los factores patológicos que conduce a la depresión o la exacerba. El comportamiento tipo depresión, tal como la inmovilidad se ve reforzada por la falta de sueño. A continuación, se usó el modelo SD para causar o exacerbar la depresión y el efecto antidepresivo de ORG fue probado en la FST y la TST en ratones del modelo SD.

5.1 Método experimental

20

Se usaron ratones Kunming (Certificado Número: A4CXK(Chuan)2003–16) del Instituto de Animales Experimentales, Hospital del Pueblo de la Provincia de Sichuan. Estos tenían 3–4 semanas de edad al comienzo de los experimentos y pesaban 25–30 g. El número de animales en cada grupo se muestra en la Tabla 13. El ORG se preparó como se describe en el Ejemplo 1. Los animales se dividieron en grupos experimentales con diferentes dosis, un grupo control del vehículo, y un grupo de imipramina (Sigma, Lote Núm.106k1588) como control positivo.

25

Modelo SD: Un método modificado con múltiples plataformas en un ambiente de agua se usó para establecer el modelo SD en ratones. Los ratones en las plataformas fueron libres de comer y beber. Sin embargo, si se quedara dormido, se caería en el agua debido a la pérdida de tono muscular. El animal caído subió a la plataforma de nuevo a través de un poste de inclinación que apuntala las plataformas. Después de 72 horas de privación del sueño, el ORG se administró por vía oral 24 h y 5 h antes del inicio de la FST. Se registró el tiempo de inmovilidad de los animales. Los métodos y análisis de datos fueron los descritos anteriormente.

30

5.2. Resultados

35

5.2.1 Efecto antidepresivo del ORG en la FST en ratones del modelo SD

En el tercer día de los tres días de la privación del sueño, el ORG se administró dos veces en 24 horas y 5 horas antes

del inicio de la FST. El ORG redujo significativamente el tiempo de inmovilidad en la FST, y los efectos fueron significativamente dependientes de la dosis (Tabla 13). La dosis de mejor eficacia fue 10 mg/kg, y la ED₅₀ fue aproximadamente 3.79 mg/kg.

5 Tabla 13. Relación tiempo de inmovilidad–dosis del ORG y la TST en ratones del modelo SD

Grupo	Dosis (mg/kg)	Número de animales	Tiempo(s) de inmovilidad (media ± SEM)	Valor P
NS	0.1 ml/10 g	26	189.27 ± 9.67	
ORG	1.25	10	198.00 ± 11.43	0.570
ORG	2.5	12	177.67 ± 15.95	0.421
ORG	5	10	160.80 ± 11.64	0.064
ORG	7.5	10	153.00 ± 11.83*	0.019
ORG	10	22	148.23 ± 7.80*	0.001
ORG	20	21	162.67 ± 9.27*	0.029
Imipramina	7.5	11	150.27 ± 13.17*	0.009

*P <0.05 (ANOVA unidireccional seguida de LSD)

5.3. Índice terapéutico de ORG en ratones del modelo DD y el modelo SD

10 [0090] La dosis tóxica media (TD₅₀) de ORG fue mayor que 1750 mg/kg (ver arriba). El índice terapéutico de ORG en ratones DD en FST = TD₅₀ ÷ ED₅₀ = >1750 mg/kg ÷ 1.48 mg/kg = >1182. El índice terapéutico de ORG en ratones DD en TST = TD₅₀ ÷ ED₅₀ = >1750 mg/kg ÷ 1.75 mg/kg = >1000. El índice terapéutico de ORG en ratones SD en FST = TD₅₀ ÷ ED₅₀ = >1750 mg/kg ÷ 3.79 mg/kg = >462.

15 Experimento 6

Estudio farmacológico de los efectos anti–ansiedad de la ORG

20 La conducta de inmovilidad inducida por estímulo eléctrico en las patas y el estrés por miedo condicionado en los roedores son ampliamente aceptados como modelos para evaluar el nivel de ansiedad. Los roedores muestran una conducta de inmovilidad cuando se proporciona la estimulación aversiva. La inmovilidad, que es una respuesta normal de los animales a los estímulos inevitables de miedo, se define como la ausencia total de movimientos del cuerpo o el mantenimiento de una postura en cuclillas. Los ansiolíticos reducen la conducta de inmovilidad de los animales. Además, el laberinto elevado en cruz es un modelo ampliamente aceptado para la evaluación de la ansiedad en roedores. La evaluación de la ansiedad se basa en el conflicto entre la tendencia a la exploración de lo nuevo y el miedo a las alturas, de manera que el roedor espontáneamente pasa más tiempo en el brazo cerrado del laberinto elevado en cruz si tiene miedo. Por lo tanto, la conducta de exploración de lo nuevo se ve reforzada por los ansiolíticos e inhibida por los ansiogénicos.

6.1 Métodos experimentales

30 Se usaron ratones Kunming (Certificado Número: A4CXK(Chuan)2003–16) del Instituto de Animales Experimentales, Hospital del Pueblo de la Provincia de Sichuan. Estos tenían 3–4 semanas de edad al comienzo del experimento y pesaban 25–30 g. El número de animales en cada grupo se muestra en la Tabla 13. El ORG se preparó como se describe en el Ejemplo 1. Los animales se dividieron en grupos de administración de los medicamentos con diferentes dosis de ORG, un grupo de control del vehículo, y un grupo de diazepam (Jinyao Ltd. Co., Lote Núm.106k1588) como control positivo.

35 **Conducta de inmovilidad inducida por estímulo eléctrico en las patas:** Los animales recibieron una inyección ip de ORG o vehículo 24 h y 5 h antes de ser colocado en una cámara estándar de entrenamiento (Med Associates, Estados Unidos) durante una sesión de entrenamiento de 10 min. Dos, 4, 6, 8, y 10 min después del inicio de la sesión, se suministró un estímulo eléctrico en las patas (0.8 mA, 2 s) a través del suelo de la rejilla de la cámara. Se registró el tiempo de inmovilidad durante los últimos 5 minutos. Las ratas se colocaron en la cámara de nuevo sin descarga en las patas 24 h después del primer entrenamiento, y se registró el tiempo de inmovilidad.

40 **Laberinto elevado en cruz (EPM):** El EPM tuvo dos brazos abiertos y dos cerrados de igual tamaño (30 cm de largo × 5 cm de ancho). Los dos brazos cerrados estaban conectados por un área central de 5 cm × 5 cm. Todo el laberinto fue elevado a una altura de 35 cm. El ORG se administró i.p. 24 h y 5 h antes del comienzo de la prueba. Los ratones se colocaron individualmente en el centro del laberinto frente a un brazo cerrado. Cada animal se puso a prueba durante 5 minutos en una sola sesión. El número de entradas en los brazos abiertos, el número de entradas en los brazos cerrados, el tiempo total empleado en los brazos abiertos, y el tiempo total empleado en los brazos cerrados se registraron, un estándar de entrada se define como todos los miembros que entran en el brazo. El número de entradas

en los brazos abiertos y el tiempo pasado en los brazos abiertos fueron los principales índices para evaluar el nivel de ansiedad de los animales, por más entradas o tiempo, menos nivel de ansiedad.

5 **Análisis de los datos:** Los resultados de la prueba se expresan como media ± SEM. Se usó una ANOVA unidireccional seguida de la prueba LSD con el programa SPSS 11. El nivel de significación se fijó en P <0.05.

6.2 Resultados

10 **6.2.1 Efecto anti-ansiedad del ORG en la prueba de la conducta de inmovilidad inducida por estímulo eléctrico plantar en ratas**

El tiempo de inmovilidad se redujo significativamente en ratas cuando se administró por vía intraperitoneal el ORG 24 h y 5 h antes del comienzo de la prueba (Tabla 14).

15 Tabla 14. Relación dosis-respuesta del ORG en la prueba de conducta de inmovilidad inducida por estímulo eléctrico plantar en ratas

Grupo	Dosis (mg/kg)	Número de ratas	Duración(es) de la inmovilidad (media ± S.E.)	Valor P
NS	0.1 ml/100 g	10	227.90 ± 20.70	
ORG	5	10	203.90 ± 34.09	0.523
	20	10	100.70 ± 21.78*	0.002

*P <0.05 (ANOVA unidireccional seguida de LSD)

20 **6.2.2 Efecto anti-ansiedad del ORG en la conducta de inmovilidad inducida por estrés por miedo condicionado en ratas**

Las ratas se les dio ORG ip dos veces en 24 h y 5 h antes de recibir el estímulo eléctrico plantar y volver a exponerse al mismo medio sin estímulo eléctrico plantar 24 h más tarde. La recuperación de la memoria del miedo inducido por señales ambientales conduce a una conducta de inmovilidad inducida por el estrés condicionado por miedo en ratas. El ORG disminuyó notablemente la conducta de inmovilidad (Tabla 15).

25 Tabla 15. Relación dosis-respuesta del ORG en la prueba de la conducta de inmovilidad inducida por el estrés acondicionado por miedo en ratas

Grupo	Dosis (mg/kg)	Número de ratas	Duración(es) de inmovilidad (media ± SEM)	Valor P
NS	0.1 ml/100 g	10	285.40 ± 47.91	
ORG	5	10	310.30 ± 66.19	0.776
	20	10	95.00 ± 17.73*	0.004

*P <0.05 (ANOVA unidireccional seguida de LSD)

30 **6.2.3 Efecto anti-ansiedad del ORG en la prueba del laberinto en cruz elevado en ratones**

El ORG administrado dos veces a las 24 h y 5 h antes de la prueba del laberinto elevado aumentó significativamente el número de entradas en los brazos abiertos y el tiempo total empleado en los brazos abiertos (Tablas 16 y 17). Este resultado indicó un efecto anti-ansiedad significativo de ORG.

Tabla 16. El ORG (i.p.) incrementó el tiempo total invertido en los brazos abiertos en ratones

Grupo	Dosis (mg/kg)	Número de ratones	Tiempo(s) total(es) invertido(s) en los brazos abiertos (media \pm SEM)	Valor P
NS	0.1 ml/10 g	10	32.50 \pm 8.93	
ORG	5	10	50.00 \pm 8.99	0.151
	20	10	16.50 \pm 3.60	0.188
	100	10	70.60 \pm 11.56*	0.003
Diazepam	2	10	46.90 \pm 7.19	0.236

*P <0.05 (ANOVA unidireccional seguida de LSD)

Tabla 17. El ORG (i.p.) incrementó las entradas en los brazos abiertos en ratones

Grupo	Dosis (mg/kg)	Número de ratones	Número de entradas en los brazos abiertos (media \pm SEM)	Valor P
NS	0.1 ml/10 g	10	3.50 \pm 0.87	
ORG	5	10	4.50 \pm 0.58	0.279
	20	10	1.80 \pm 0.79	0.069
	100	10	5.90 \pm 0.57*	0.012
Diazepam	2	10	4.80 \pm 0.77	0.161

*P <0.05 (ANOVA unidireccional seguida de LSD)

5 Experimento 7

Estudio farmacológico del efecto anti-estrés del ORG

El estrés se define en los sistemas biológicos como cualquier condición que perturba seriamente la homeostasis fisiológica o psicológica de un organismo. El estrés se cree que es uno de los principales factores que exacerba o que conduce a muchas enfermedades. El hipocampo es una formación del cerebro importante en el aprendizaje y la memoria, así como en la regulación de las respuestas al estrés. El estrés puede conducir al deterioro de la plasticidad sináptica del hipocampo, el aprendizaje y la memoria. La concentración de corticosterona en suero es una de las indicaciones más frecuentes para evaluar los niveles de estrés.

7.1 Métodos experimentales

Se usaron ratas con un peso de 250–300 g, del Instituto de Animales Experimentales, Hospital del Pueblo de la Provincia de Sichuan. El ORG se preparó como se describe en el Ejemplo 1. La fluoxetina fue de Wuhan Yuancheng Technology Co. (Wuhan, China; Núm. Lote Núm.: 1004–0801002).

Medición de corticosterona sérica : Se usó radioinmunoensayo (RIA; DSL 80100; Texas) para determinar el efecto del ORG en la concentración de corticosterona sérica. En el grupo no estresado, la sangre se recogió por punción cardíaca bajo anestesia con éter en 1 h después de la inyección de ORG. En el grupo estresado, 1 h después de la inyección de ORG, las ratas fueron sometidas a estrés por plataforma elevada durante 30 min, y después se tomaron muestras de la misma manera. Las muestras de sangre se mantuvieron por 4 h a temperatura ambiente y después se centrifugaron por 15 min (3000 rpm). El sobrenadante (suero) se recogió y se almacenó a -20°C .

Método de la potenciación a largo plazo (LTP) registrado en el hipocampo: Se registraron potenciales postsinápticos excitatorios (EPSP) en el hipocampo para determinar el efecto anti-estrés de ORG. El estrés afecta la LTP en el área CA1 del hipocampo, y esto puede ser rescatado por los medicamentos anti-estrés. Las ratas se estresaron por estímulo eléctrico en las patas de la siguiente manera: 1 mA, 2s, 5 veces a intervalos de 2 min. Se prepararon porciones delgadas de hipocampo, se incubaron durante $34-36^{\circ}\text{C}$, y se mantuvieron a temperatura ambiente. El ORG se aplicó en una solución del baño. Los EPSP mediados por los receptores NMDA y AMPA en la región CA1 se registraron hasta que la línea de base fue estable durante 20 min. Después se usó la estimulación de alta frecuencia (HFS, 100 Hz, 100 pulsos, intervalo de 20 s) para inducir LTP. Los EPSP se registraron durante 1 h después de la HFS.

Análisis de los datos: Los datos se expresan como media \pm SEM y LTP se expresa como el porcentaje de la amplitud promedio de los últimos 10 min en relación con la línea de base. Se usó ANOVA unidireccional seguida de la prueba LSD con el programa SPSS 11. El nivel de significación se fijó en $P < 0.05$.

7.2 Resultados

7.2.1 Efecto anti-estrés del ORG (ip) en la elevación inducida por el estrés agudo del nivel de corticosterona sérica.

5

La sangre se recogió por punción cardíaca 1 h después de la inyección ip de ORG en los controles o después de 30 min de la experiencia del estrés. El ORG disminuyó significativamente el nivel de corticosterona en suero de una manera dependiente de la dosis (Tabla 18).

10

Tabla 18. Relación dosis- nivel de corticosterona del ORG (i.p.)

Grupos	Dosis (mg/kg)	Número de animales	Concentración de corticosterona sérica (ng/ml) (media ± SEM)	Valor P
Sin estrés + NS	0.1 ml/100 g	16	116.06 ± 27.84	
Sin estrés + ORG	0.875	8	209.02 ± 52.77	0.197
	3.5	8	166.06 ± 41.90	0.649
	14	16	70.04 ± 14.75	0.084
	28	8	63.13 ± 22.21	0.122
Sin estrés + Fluoxetina	15	16	167.20 ± 31.35	0.559
	30	8	178.14 ± 38.77	0.490
Estrés + NS	0.1 ml/100 g	16	324.30 ± 48.81	
Estrés + ORG	0.875	8	349.85 ± 61.75	0.706
	3.5	8	263.63 ± 49.14	0.372
	14	16	237.63 ± 32.45	0.120
	28	8	137.41 ± 26.84*	0.007
Estrés + Fluoxetina	15	16	331.35 ± 46.43	0.899
	30	8	324.58 ± 58.63	0.997

*P <0.05 (ANOVA unidireccional seguida de LSD)

7.2.2 Restauración del efecto de ORG sobre la LTP del hipocampo deteriorado por el estrés

15

Se prepararon porciones delgadas de hipocampo de ratas después de la exposición al estrés por estímulo eléctrico en las patas, que es un protocolo bien aceptado para deteriorar la LTP del hipocampo. Se registraron los EPSPS en línea de base durante 20 min, en porciones delgadas incubadas con ORG durante 1 h. El ORG restauró la LTP deteriorada por el estrés e incluso aumentó significativamente a la dosis de 5 µM/l, lo que muestra el efecto dependiente de la dosis (Tabla 19).

20

Los resultados anteriores muestran que el ORG tiene un significativo efecto anti-estrés y tiene un valor clínico importante en el tratamiento de la depresión con una etiología de estrés.

Tabla 19. Relación dosis-efecto en porciones delgadas de hipocampo incubadas con el ORG en la restauración de la LTP deteriorada por el estrés

Grupos	Dosis	Número de porciones delgadas	Promedio de los últimos 10 min (media ± SEM)	Valor P
Control		9	134.52 ± 10.71	
Control + ORG	µM	11	122.93 ± 3.75	0.453
FS + NS	0.1 ml/10 g	11	113.22 ± 6.77	0.234
FS + ORG	50 nM	9	128.99 ± 7.30	0.732
FS + ORG	µM	8	189.56 ± 23.6*	0.002

*P <0.05 (ANOVA unidireccional seguida de LSD)

Experimento 8**Estudio farmacológico de ORG y la mejora del aprendizaje y la memoria**

5 El laberinto de agua de Morris (MWM) es ampliamente usado en los estudios de aprendizaje dependientes del hipocampo y la memoria y sus mecanismos celulares y moleculares. Es bien aceptado que el MWM es un método efectivo de evaluación farmacológica del aprendizaje y la memoria. Se realizó un seguimiento automáticamente y se analizaron la latencia de escape, la estrategia, y la trayectoria de los animales para investigar su aprendizaje espacial y la memoria. Después de que los animales aprenden a escapar, se retira la plataforma oculta para poner a prueba la retención en el cuadrante objetivo. Un mayor tiempo pasado en el cuadrante derecho indica una mejor memoria.

10

8.1 Métodos experimentales

15 Se usaron ratones Kunming (Número de Certificado: A4CXK (Chuan) 2003–16) del Instituto de animales de experimentación, Hospital Popular de la provincia de Sichuan. Estos tenían 3–4 semanas de edad al comienzo del experimento y pesaban 25–30 g. El número de animales en cada grupo se muestra en las Tablas 20 y 21. ORG se preparó como se describe en el Ejemplo 1. Los animales se dividieron en grupos de administración de los medicamentos con fluoxetina o diferentes dosis de ORG y un grupo de control de vehículo. Los grupos de administración del medicamento recibieron 1.75 mg/kg o 3.5 mg/kg de ORG o 15 mg/kg de fluoxetina. Los animales recibieron una sola inyección ip del medicamento o vehículo 30 min ya sea después del entrenamiento de todos los días o 30 minutos antes de la prueba de retención en el día 8.

20

25 **Laberinto de agua de Morris:** El MWM se realizó en una piscina circular (100 cm de diámetro y 36 cm de profundidad) con una plataforma oculta (10 cm x 10 cm) que fue de aproximadamente 1 cm por debajo de la superficie del agua. La piscina estaba rodeada de cortinas amarillas con diferentes marcadores en forma de colgantes en cada cuadrante. El tiempo empleado para encontrar la plataforma oculta y la trayectoria del ratón se registraron por ordenador. Desde los días 1 al 7, los ratones fueron colocados en la piscina para encontrar la plataforma escondida fijada. En el día 8, la plataforma se retiró y el tiempo que pasó el ratón en el cuadrante objetivo se contó en 1 min de natación libre.

30

30 **Análisis de los datos:** Los resultados de la prueba se expresan como la media \pm SEM. Se usó la ANOVA unidireccional seguida por la prueba LSD con el software SPSS 11. El nivel de significación se fijó en $P < 0.05$.

35

8.2. Resultados**8.2.1 Efecto de ORG (ip) inmediatamente después del entrenamiento en la prueba MWM**

40

40 Cuando el ORG se proporciona después del entrenamiento diario, la recuperación de la memoria espacial (el tiempo que los animales pasaban en el cuadrante objetivo) fue significativamente mayor al influir en la consolidación de la memoria (Tabla 20).

Tabla 20. La memoria espacial se reforzó en ratones con la administración diaria del ORG después del entrenamiento

Grupo	Dosis (mg/kg)	Número de ratones	Tiempo(s) empleado(s) en el cuadrante derecho (media \pm SEM)	Valor P
NS	0.1 ml/10 g	10	27.10 \pm 2.79	
ORG	1.75	10	28.18 \pm 1.70	0.74
ORG	3.5	10	34.24 \pm 2.01*	0.03
Fluoxetina	15	9	32.61 \pm 2.20	0.11

*P < 0.05 (ANOVA unidireccional seguida de LSD)

8.2.2 Efecto de ORG (ip) antes de la recuperación en la prueba MWM

El entrenamiento finalizó después de 7 días. La prueba de recuperación se llevó a cabo en el día 8. Cuando el ORG se administró 30 min antes de la recuperación, la recuperación de la memoria espacial se mejoró significativamente (Tabla 21).

5

Tabla 21. La memoria espacial se reforzó en ratones con ORG administrado 30 min antes de la recuperación

Grupo	Dosis (mg/kg)	Número de ratones	Tiempo(s) empleado(s) en el cuadrante derecho (media \pm SEM)	Valor P
NS	0.1 ml/10 g	10	27.95 \pm 2.19	
ORG	1.75	10	29.38 \pm 2.16	0.65
ORG	3.5	10	35.52 \pm 2.43*	0.02
Fluoxetina	15	9	29.44 \pm 2.14	0.65

*P <0.05 (ANOVA unidireccional seguida deLSD)

Experimento 9

10

Prueba de toxicidad de ORG

9.1 Ensayo de toxicidad aguda de ORG en ratones

15

9.1.1 Métodos experimentales

20

Se usaron ratones Kunming (Número de Certificado: A4CXK (Chuan) 2003–16) del Instituto de los animales de experimentación, Hospital Popular de la provincia de Sichuan. Estos tenían 3–4 semanas de edad al comienzo del experimento y pesaban 25–30 g. El ORG se preparó como se describe en el Ejemplo 1. El ORG (1750 mg) se disolvió en 10 ml de NS para dar una concentración de 175 mg/ml. Los ratones se dividieron en dos grupos, el grupo de ORG para la evaluación se le suministró ORG y un grupo fue tratado con NS para el control de vehículo. Se administraron ORG y NS a cada grupo por vía oral a un volumen de 0.1 ml/10 g.

30

9.1.2. Resultados

25

Cuando se administró el ORG en 1750 mg/kg a los ratones en un ensayo de toxicidad aguda, la apariencia, el comportamiento, el estado mental, el apetito, el pelo, el color, y la respiración de los animales se observaron durante 14 días y no se encontró nada anormal. Todos los ratones sobrevivieron al experimento y el aumento de peso fue normal. No hubo una diferencia significativa entre los dos grupos. Todos los ratones fueron sacrificados en el día 14, y el corazón, hígado, bazo, pulmón, riñón, páncreas, ovario, testículo, intestino delgado, y otros órganos viscerales se investigaron por sección patológica y tampoco tuvieron alteraciones evidentes.

9.2 Ensayo de toxicidad subaguda de ORG en ratas

9.2.1 Métodos experimentales

35

Se usaron ratas (Certificado Número: A4CXK(Chuan)2003–16) del Instituto de Animales Experimentales, Hospital del Pueblo de la Provincia de Sichuan. Su peso fue de 250–300 g. El ORG se preparó como se describe en el Ejemplo 1.

9.2.2 Resultados

40

El ORG (1750 mg/kg), que es 7955 veces la ED₅₀ en la FST de ratón y 2397 veces la ED₅₀ en la TST de ratón, se administró por vía oral una vez al día durante 14 días consecutivos. La apariencia, el comportamiento, el estado mental, el apetito, el pelo, el color y la respiración de los animales se observaron durante 14 días y no se encontró nada anormal. Todas las ratas sobrevivieron al experimento y el aumento de peso fue normal. No hubo una diferencia significativa entre los dos grupos. Todas las ratas se sacrificaron en el día 14, y el corazón, hígado, bazo, pulmón, riñón, páncreas, ovario, testículo, intestino delgado, y otros órganos viscerales se investigaron por sección patológica y las imágenes de las secciones de tejido no mostraron alteraciones evidentes..

45

Resumen farmacológico del 5–metil–1,3–bencenodiol y sus derivados

50

La dosis–efecto y tiempo de evolución–respuesta de los efectos antidepresivos de ORG y sus derivados fueron estudiados usando los modelos FST, TST, DD, SD y CMS. Los resultados indican que el OR, el ORG y sus derivados presentan actividades útiles para tratar y prevenir la depresión y los síntomas indicativos de depresión: los trastornos del ritmo circadiano, trastornos del sueño y el estrés crónico. Los estudios del mecanismo antidepresivo mostraron que el OR, el ORG y sus derivados reparan el deterioro de la LTP del hipocampo, mejoran el aprendizaje dependiente del

5 hipocampo y la memoria, y tratan y previenen los factores relacionados con la depresión, tales como la ansiedad y el estrés agudo. El mecanismo de la LTP del hipocampo está relacionado principalmente con receptores de NMDA y AMPA y sus vías moleculares y celulares. En conclusión, el OR, el ORG y sus derivados pueden ajustar estos objetivos como reguladores y producir los efectos de prevenir y tratar la depresión a través de la restauración de la LTP del hipocampo.

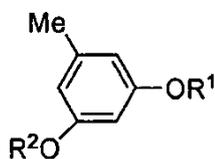
10 Dado que las neuronas se comunican principalmente a través de las sinapsis químicas, y se cree que los recuerdos son almacenados dentro de estas sinapsis, se considera que la LTP es uno de los principales mecanismos celulares que subyacen al aprendizaje y la memoria. Por lo tanto, el OR, el ORG y sus derivados pueden también ser aplicados para tratar y prevenir otros trastornos tales como la enfermedad de Alzheimer, ADHD en la infancia, el autismo, y la esquizofrenia. Puesto que más del 90% de todas las enfermedades se pueden inducir o exacerbar por el estrés y las funciones del hipocampo de regulación del estrés implican la plasticidad sináptica, el OR, el ORG y sus derivados pueden ser beneficiosos en el tratamiento, la prevención, y la rehabilitación de muchas enfermedades en la clínica, por ejemplo, los drogadictos que experimentan estrés extremo durante el tiempo de abstinencia, y pacientes con cáncer o enfermedades cardiovasculares que se someten a estrés o ansiedad excesivos.

20 En combinación con los resultados de los experimentos preliminares sobre la toxicidad, el OR, el ORG y sus derivados tienen nuevas aplicaciones en el tratamiento y la prevención de la depresión y las causas etiológicas de la depresión con características de alta eficacia y baja toxicidad. Otros usos del OR, del ORG y sus derivados son aplicaciones en el tratamiento y prevención de los síntomas indicativos de depresión, tales como el estrés y la ansiedad aguda. Los mecanismos implicados en el efecto antidepressivo de OR, ORG y sus derivados son la regulación de los corticosteroides en suero, la plasticidad sináptica del hipocampo incluyendo los receptores de NMDA y AMPA y sus vías de señalización intracelular, y el aprendizaje y la memoria.

25 Por lo tanto, los usos terapéuticos y los efectos beneficiosos de la presente invención de OR, ORG y sus derivados son los siguientes: (1) efecto terapéutico sobre la depresión; (2) efectos terapéuticos sobre las causas de la depresión; (3) efectos terapéuticos en los síntomas de la depresión. Los compuestos revelados pueden también ser útiles para otras enfermedades que involucran el estrés, la ansiedad, y el deterioro cognitivo funcional.

REIVINDICACIONES

1. Uso de 5-metil-1,3-bencenodiol o sus derivados representados por la Fórmula I o preparaciones farmacéuticas que contienen 5-metil-1,3-bencenodiol o sus derivados representados por la Fórmula I para la fabricación de un medicamento para el tratamiento o prevención de la depresión



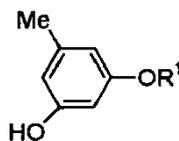
I

en donde:

R¹ es hidrógeno, β-D-glucopiranosilo, β-D-glucopiranosil-(1→6)-β-D-glucopiranosilo, 2, 3, 4, 6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosilo, manosilo, alosilo, galactosilo, ramnosilo, fucosilo, xilosilo, arabinosilo, acetilo, propionilo, benzoilo, cinamoilo, succinilo, metilo, etilo, propilo, butilo o bencilo;

R² es hidrógeno, β-D-glucopiranosilo, β-D-glucopiranosil-(1→6)-β-D-glucopiranosilo, 2, 3, 4, 6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosilo, manosilo, alosilo, galactosilo, ramnosilo, fucosilo, xilosilo, arabinosilo, acetilo, propionilo, benzoilo, cinamoilo, succinilo, metilo, etilo, propilo, butilo, o bencilo.

2. Uso de 5-metil-1,3-bencenodiol o sus derivados representados por la Fórmula II o preparaciones farmacéuticas que contienen 5-metil-1,3-bencenodiol o sus derivados representados por la Fórmula II para la fabricación de un medicamento para el tratamiento o prevención de la depresión



II

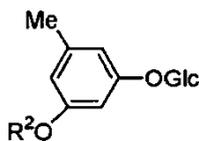
en donde:

R¹ es hidrógeno, β-D-glucopiranosilo, β-D-glucopiranosil-(1→6)-β-D-glucopiranosilo, 2, 3, 4, 6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosilo, manosilo, alosilo, galactosilo, ramnopiranosilo, fucosilo, xilosilo, arabinosilo, acetilo, propionilo, benzoilo, cinamoilo, succinilo, metilo, etilo, propilo, butilo, o bencilo.

3. Uso de 5-metil-1,3-bencenodiol o sus derivados representados por la Fórmula II de acuerdo con la reivindicación 2, en donde R¹ es hidrógeno, β-D-glucopiranosilo, β-D-glucopiranosil-(1→6)-β-D-glucopiranosilo, 2, 3, 4, 6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosilo, manosilo, alosilo, galactosilo, ramnopiranosilo, fucosilo, xilosilo, o arabinosilo.

4. Uso de 5-metil-1,3-bencenodiol o sus derivados representados por la Fórmula II de acuerdo con la reivindicación 3, en donde R¹ es hidrógeno, β-D-glucopiranosilo, β-D-glucopiranosil-(1→6)-β-D-glucopiranosilo.

5. Uso de derivados de 5-metil-1,3-bencenodiol representados por la Fórmula III o preparaciones farmacéuticas que los contienen para la fabricación de un medicamento para el tratamiento o prevención de la depresión.

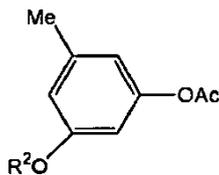


III

en donde:

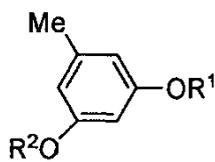
R² es β-D-glucopiranosilo, β-D-glucopiranosil-(1→6)-β-D-glucopiranosilo, 2, 3, 4, 6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosilo, manosilo, alosilo, galactosilo, ramnopiranosilo, fucosilo, xilosilo, arabinosilo, acetilo, propionilo, benzoilo, cinamoilo, succinilo, metilo, etilo, propilo, butilo, o bencilo.

6. Uso de derivados de 5-metil-1,3-bencenodiol representados por la Fórmula III de acuerdo con la reivindicación 5, en donde R^2 es β -D-glucopiranosilo, β -D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopiranosilo, 2, 3, 4, 6-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosilo, manosilo, alosilo, galactosilo, ramnopiranosilo, fucosilo, xilosilo, o arabinosilo.
7. Uso de acuerdo con la reivindicación 6, en donde R^2 es β -D-glucopiranosilo, β -D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopiranosilo, o ramnopiranosilo.
8. Uso de derivados de 5-metil-1,3-bencenodiol representados por la Fórmula IV o preparaciones farmacéuticas que los contienen para la fabricación de un medicamento para el tratamiento o prevención de la depresión



IV

- en donde:
 R^2 es β -D-glucopiranosilo, β -D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopiranosilo, 2, 3, 4, 6-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosilo, manosilo, alosilo, galactosilo, ramnopiranosilo, fucosilo, xilosilo, arabinosilo, acetilo, propionilo, benzoilo, cinamoilo, succinilo, metilo, etilo, propilo, butilo, o bencilo.
9. Uso de acuerdo con la reivindicación 8, en donde R^2 es β -D-glucopiranosilo, β -D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopiranosilo, 2, 3, 4, 6-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosilo, manosilo, alosilo, galactosilo, ramnopiranosilo, fucosilo, xilosilo, arabinosilo, acetilo, propionilo, benzoilo, cinamoilo, o succinilo.
10. Uso de acuerdo con la reivindicación 8, en donde R^2 es 2,3, 4, 6-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosilo, o acetilo: 1, 3-O-diacetilorcinol, o 3-O-acetil-orcinol-1-O-(2, 3, 4, 6-tetraacetil)- β -D-glucopiranosido.
11. Uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, de 5-metil-1,3-bencenodiol o sus derivados representados por las Fórmulas I, II, III o IV o preparaciones farmacéuticas que contienen 5-metil-1,3-bencenodiol o sus derivados representados por las Fórmulas I, II, III o IV en excipientes farmacéuticamente aceptables o suplementos dietéticamente aceptable para el tratamiento o prevención de la depresión, para regular directamente la LTP del hipocampo y para regular los corticosteroides séricos.
12. Uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en donde el término "depresión" incluye los siguientes subtipos:
- (1) depresión y trastornos del estado de ánimo, como la depresión, depresión maníaca, depresión mixta, y trastorno maníaco, o hipomanía, o (2) trastornos depresivos, como el trastorno depresivo y distimia, o (3) otros trastornos afectivos, como trastornos afectivos causados por trastornos mentales o de diferentes subtipos que muestran características de los trastornos depresivos y trastornos afectivos causados por sustancias (por ejemplo, los fármacos adictivos) o la terapia (tales como cirugía, radioterapia, o quimioterapia), o (4) trastorno bipolar o trastorno afectivo bipolar que contiene dos o más episodios de depresión e hipomanía, y alternancia de episodios de manía y depresión.
13. Uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en donde los síntomas de la depresión o síntomas indicativos de depresión se refieren a trastornos del ritmo circadiano, trastornos del sueño, estrés crónico, ansiedad, o trastornos de deterioro agudo inducido por el estrés, o deterioro cognitivo funcional.
14. Uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en donde los alimentos funcionales incluyen alimentos diarios, bebidas, o bebidas en las que el 5-metil-1,3-bencenodiol o sus derivados o las preparaciones farmacéuticas que contienen 5-metil-1,3-bencenodiol o sus derivados se aplican para tratar y prevenir los síntomas anteriormente mencionados de la depresión o síntomas indicativos de depresión.
15. Un medicamento que comprende el 5-metil-1,3-bencenodiol o sus derivados representados por la Fórmula I o composiciones farmacéuticas que contienen los componentes activos (5-metil-1,3-bencenodiol o sus derivados) en los portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables:

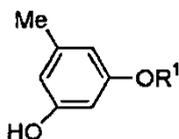


I

en donde:

R¹ es hidrógeno, β-D-glucopiranosilo, β-D-glucopiranosil-(1-6)-β-D-glucopiranosilo, 2, 3, 4, 6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosilo, manosilo, alosilo, galactosilo, ramnopiranosilo, fucosilo, xilosilo, arabinosilo, acetilo, propionilo, benzoilo, cinamoilo, succinilo, metilo, etilo, propilo, butilo, o bencilo; R² es hidrógeno, β-D-glucopiranosilo, β-D-glucopiranosil-(1-6)-β-D-glucopiranosilo, 2, 3, 4, 6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosilo, manosilo, alosilo, galactosilo, ramnopiranosilo, fucosilo, xilosilo, arabinosilo, acetilo, propionilo, benzoilo, cinamoilo, succinilo, metilo, etilo, propilo, butilo, o bencilo para su uso en tratar o prevenir la depresión.

16. Un medicamento que comprende el 5-metil-1,3-bencenodiol o sus derivados representados por la Fórmula II, o composiciones farmacéuticas que contienen los componentes activos (5-metil-1,3-bencenodiol o sus derivados) en los portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables:

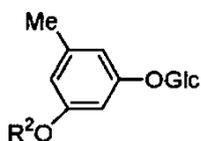


II

en donde:

R¹ es hidrógeno, β-D-glucopiranosilo, β-D-glucopiranosil-(1-6)-β-D-glucopiranosilo, 2, 3, 4, 6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosilo, manosilo, alosilo, galactosilo, ramnopiranosilo, fucosilo, xilosilo, arabinosilo, acetil, propionilo, benzoilo, cinamoilo, succinilo, metilo, etilo, propilo, butilo, o bencilo para su uso en tratar o prevenir la depresión.

17. Un medicamento para usar de acuerdo con la reivindicación 16, en donde R¹ es hidrógeno, β-D-glucopiranosilo, β-D-glucopiranosil-(1-6)-β-D-glucopiranosilo, 2, 3, 4, 6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosilo, mannosilo, alosilo, galactosilo, ramnopiranosilo, fucosilo, xilosilo, o arabinosilo.
18. Un medicamento para usar de acuerdo con la reivindicación 17, en donde R¹ es hidrógeno, β-D-glucopiranosilo o β-D-glucopiranosil-(1-6)-β-D-glucopiranosilo.
19. Un medicamento que comprende el 5-metil-1,3-bencenodiol o sus derivados representados por la Fórmula III o composiciones farmacéuticas que contienen los componentes activos (5-metil-1,3-bencenodiol o sus derivados) en los portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables:



III

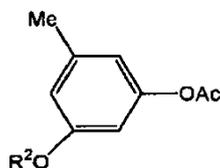
en donde:

R² es β-D-glucopiranosilo, β-D-glucopiranosil-(1-6)-β-D-glucopiranosilo, 2, 3, 4, 6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosilo, manosilo, alosilo, galactosilo, ramnopiranosilo, fucosilo, xilosilo, arabinosilo, acetilo, propionilo, benzoilo, cinamoilo, succinilo, metilo, etilo, propilo, butilo, o bencilo para su uso en tratar o prevenir la depresión.

20. Un medicamento para usar de acuerdo con la reivindicación 19, en donde R² es β-D-glucopiranosilo, β-D-glucopiranosil-(1-6)-β-D-glucopiranosilo, 2, 3, 4, 6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosilo, manosilo, alosilo, galactosilo, ramnopiranosilo, fucosilo, xilosilo, o arabinosilo.

21. Un medicamento para usar de acuerdo con la reivindicación 20, en donde R^2 es β -D-glucopiranosilo, β -D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopiranosilo, o ramnopiranosilo.

5 22. Un medicamento que comprende el 5-metil-1,3-bencenodiol o sus derivados representados por la Fórmula IV o composiciones farmacéuticas que contienen los componentes activos (5-metil-1,3-bencenodiol o sus derivados) en los portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables:



IV

10 en donde:
 R^2 es β -D-glucopiranosilo, β -D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopiranosilo, 2, 3, 4, 6-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosilo, manosilo, alosilo, galactosilo, ramnopiranosilo, fucosilo, xilosilo, arabinosilo, acetilo, propionilo, benzoilo, cinamoilo, succinilo, metilo, etilo, propilo, butilo o bencilo para su uso en tratar o prevenir la depresión.

15 23. Un medicamento para usar de acuerdo con la reivindicación 22, en donde R^2 es β -D-glucopiranosilo, β -D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopiranosilo, 2, 3, 4, 6-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosilo, manosilo, alosilo, galactosilo, ramnopiranosilo, fucosilo, xilosilo, arabinosilo, acetilo, propionilo, benzoilo, cinamoilo, o succinilo.

20 24. Un medicamento para usar de acuerdo con la reivindicación 23, en donde R^2 es 2, 3, 4, 6-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosilo, o acetilo: 1, 3-O-diacetilorcinol, o 3-O-acetil-orcinol-1-O-(2, 3, 4, 6-tetraacetil)- β -D-glucopiranosido.

25 25. Un medicamento para usar de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 15 a 24, la dosis efectiva de los componentes activos (5-metil-1,3-bencenodiol o derivados) para tratar o prevenir la depresión está entre 0.1 mg/adulto/ día y 12 g/adulto/día, y la dosis óptima es de 50–200 mg/adulto/día.

26. Un medicamento para usar de acuerdo con la reivindicación 25, la dosis efectiva de los componentes activos (5-metil-1,3-bencenodiol o derivados representados por las Fórmulas I, II, III, o IV) para tratar o prevenir la depresión es 50–200 mg/adulto/día.