

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 601 510**

51 Int. Cl.:

A61K 36/725 (2006.01)

A61K 36/484 (2006.01)

A61K 36/258 (2006.01)

A61P 25/24 (2006.01)

A61P 25/22 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.11.2007 PCT/CN2007/003386**

87 Fecha y número de publicación internacional: **11.06.2009 WO09070915**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.11.2007 E 07845749 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.08.2016 EP 2216038**

54 Título: **Composiciones farmacéuticas para tratar la depresión y la ansiedad**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
15.02.2017

73 Titular/es:
CHI, YU-FEN (50.0%)
3F., NO. 9, ALLEY 27 LANE 67 MINZU ST.
YONGHE TAIPEI COUNTY 234
TAIWAN, CN y
ZHANG, ZUOGUANG (50.0%)

72 Inventor/es:
ZHANG, ZUOGUANG

74 Agente/Representante:
DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 601 510 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

Composiciones farmacéuticas para tratar la depresión y la ansiedad

5 La presente invención se refiere a una composición farmacéutica o el alimento natural fabricado a partir de las materias primas que incluyen ginsenosido Rg1 y Rb1, ácido glicirrícico y opcionalmente adenosina monofosfato cíclico de azufaifa (cAMP de azufaifa) como se define en las reivindicaciones 12-14 y su uso en el tratamiento de la depresión y el trastorno de ansiedad como se define en las reivindicaciones 1-6. La presente invención se refiere también a una composición farmacéutica o al alimento natural para usar en el tratamiento de depresión y trastorno de ansiedad como se define en las reivindicaciones 7-11. Tiene funciones y componentes definitivos, efecto curativo obvio, menos efectos secundarios y alta seguridad para el uso a largo plazo.

10 Los trastornos psicológicos están provocados por disfunción cerebral y los individuos afligidos muestran anomalías en conocimiento, pensamiento, emoción, comportamiento, deseo e inteligencia, etc. Los trastornos psicológicos ocupan cuatro de diez enfermedades, provocando la carga más seria en la sociedad. La gente está ahora prestando más y más atención a la disfunción psicológica en el curso del desarrollo social. La comunidad médica y la sociedad como un todo están buscando urgentemente medicina psicológica para combatir los trastornos psicológicos. El trastorno de ansiedad y la depresión son las disfunciones psicológicas más comunes, siendo los compuestos farmacéuticos ansiolíticos y antidepresivos el método principal de tratamiento.

15 El trastorno de ansiedad es una enfermedad psicológica que se manifiesta principalmente como emoción ansiosa. Las características principales son evasión o emociones ansiosas continuas tales como ansiedad, catatonia y miedo, etc., en combinación con síndromes tales como trastorno nervioso autónomo, rigidez muscular y trastorno del ejercicio, etc. Desde que Sigmund Freud hubo separado el trastorno de ansiedad de la neurastenia, los investigadores alrededor del mundo han comenzado estudios a gran escala en el trastorno de ansiedad y han acumulado una gran cantidad de datos. Según la moderna investigación médica, la etiología de trastorno de ansiedad incluye defectos en la anatomía psicológica, sistema neurotransmisor/modulador-receptor y neuro-endocrino, etc.

25 La medicina ansiolítica convencional actual es benzodiazepina cuyo mecanismo es modular la actividad del neurotransmisor inhibitor, ácido gamma-aminobutírico (GABA), reducir y aliviar los síntomas. Sin embargo, la benzodiazepina tiene muchos efectos secundarios que incluyen somnolencia, alergia, dolor muscular, debilidad, náusea, disfunción del ejercicio, visión borrosa, cansancio, molestias y delirios, etc.

30 La depresión es una enfermedad común. La Organización Mundial de la Salud (OMS) publicó, "La incidencia de la depresión en el mundo es aproximadamente 11%. En la actualidad, hay aproximadamente 340 millones de pacientes psicológicos deprimidos en el mundo, y el número está aumentando". La investigación se encuentra con que la depresión aumentará para ser la enfermedad común número dos en el mundo de aquí a 20 años".

35 Los compuestos farmacéuticos antidepresivos convencionales actuales son Prozac, Paxil y Zoloft, etc., que pertenecen al inhibidor de reabsorción de serotonina selectivo (SSRI), inhibidor de reabsorción de serotonina-norepinefrina (SNRI), e inhibidor de reabsorción de norepinefrina y dopamina (NDRI), que inhibe la absorción de 5-hidroxitriptamina (5-HT), norepinefrina (NE) y dopamina (DA). El mecanismo por el que estos compuestos farmacéuticos antidepresivos funcionan es aumentando la cantidad de neurotransmisores humanos tales como 5-HT de forma que alivia los síntomas de depresión. Sin embargo, los compuestos antidepresivos comercializados tienen efectos secundarios con diferentes niveles, tales como aumento de la tasa de suicidio, dolor de cabeza, mareo, vértigo, insomnio, hipersomnio, acúfeno, sed, apoplejía, orexia, aumento del peso corporal, aumento de la presión sanguínea, malestar estomacal, regurgitación náusea, emesis, dispepsia, diarrea, estreñimiento, dolor de piernas, sarpullido, temblor, convulsiones, hiperhidrosis, edema, apetito sexual e impotencia, etc.

45 En años recientes, los compuestos farmacéuticos antidepresivos, tales como Prozac, etc., se han vuelto un problema social serio. En 2004, la Administración de Alimentación y Fármacos (FDA) de los Estados Unidos mandó además a las compañías farmacéuticas revisar las etiquetas de los productos para exponer claramente los efectos secundarios y precauciones en las instrucciones de los 32 principales compuestos farmacéuticos antidepresivos en el mercado, y enfatizó a los médicos y enfermeras que estos compuestos farmacéuticos podían aumentar las tasas de suicidio de niños y adolescentes. Sin embargo, muchos pacientes de depresión que tienen un proceso terapéutico y aspiración terapéutica paran o rechazan sus terapias debido a preocupaciones sobre o incapacidad para resistir muchos efectos secundarios de los actuales compuestos farmacéuticos antidepresivos. A la luz de la situación actual, la búsqueda de una nueva generación de compuestos farmacéuticos con menos efectos secundarios, alta seguridad para el uso a largo plazo y cualidades antidepresivas y ansiolíticas más pronunciadas/potentes se ha convertido en el centro de atención de todo el mundo farmacéutico.

50 El documento US 6.083.932 describe una composición farmacéutica que comprende una fracción total de saponina que es aproximadamente el 20 al 50% en peso del extracto de ginseng.

55 Shores M. et al, Comprehensive Psychiatry, vol. 33, núm. 4, 2237-244 describe generalmente la relación entre la ansiedad y la depresión.

El documento CN 1 836 687 describe las composiciones farmacéuticas que comprenden 4-18 partes de ginseng y 3-14 partes de regaliz con o sin 3-14 partes de una azufaifa para usar en el tratamiento de depresión.

Se intenta por tanto por el solicitante resolver la situación anterior encontrada en la técnica anterior.

Compendio de la invención

5 El propósito de la presente invención es proporcionar una composición farmacéutica o un alimento natural que supere la insuficiencia de los tratamientos disponibles actualmente para la depresión y el trastorno de ansiedad. Se fabrica la composición farmacéutica o un alimento natural a partir de materias primas que incluyen ginsenósido Rg1 y Rb1, ácido glicirrónico y opcionalmente cAMP de azufaifa para tratar la depresión y el trastorno de ansiedad. En particular, se proporciona el nuevo esquema técnico que ofrece funciones y componentes definitivos, efecto curativo
10 obvio, menos efectos secundarios y alta seguridad para el uso a largo plazo. Más específicamente, una composición farmacéutica se describe para el uso en el tratamiento de una depresión y un trastorno de ansiedad, caracterizado por comprender:

2~25 partes en peso de un ginsenósido que tiene un Rg1 y un Rb1; y

15 3~46 partes en peso de un ácido glicirricídicamente relacionado seleccionado del grupo que consiste en ácido glicirrónico, ácido glicirretínico y una combinación de los mismos.

El esquema de resolución del compuesto farmacéutico de la presente invención es el resultado intentado por el inventor de acuerdo con las teorías patológicas y farmacológicas de la medicina moderna para tratar la depresión y el trastorno de ansiedad. El esquema, que emplea dos o tres materias primas que incluyen ginseng, regaliz y opcionalmente azufaifa, se desarrolla en base a las teorías patológicas y farmacológicas de la medicina moderna para tratar la ansiedad; específicamente, integra la investigación dirigida al compuesto farmacéutico pasado con el conocimiento reciente desarrollado en el mecanismo post-receptor. El ginsenósido procedente del ginseng tiene actividad adenilatociclasa (AC) para estimular la síntesis de cAMP y la actividad inhibidora de cAMP fosfodiesterasa (CAPD) para reducir el colapso de cAMP; ácido glicirrónico (y ácido glicirretínico) procedente del regaliz son inhibidores fuertes de CAPD. El ginsenósido Rg1 y Rb1 y el ácido glicirrónico cuando se emparejan y se usan de
20 forma colectiva aumentan más la concentración y actividad de cAMP y la proteína quinasa A (PKA) respectivamente en el organismo. La creciente concentración y actividad de cAMP puede (1) aumentar la síntesis y liberación del neurotransmisor tal como norepinefrina, etc., (2) aumentar la expresión del factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF), e (3) inhibir la hiperactividad del eje hipotalámico-pituitaria-adrenal (HPA) y la secreción de glucocorticoides, de manera que alcanza la función antidepresiva significativa. La creciente concentración y la actividad de PKA pueden ampliar la función de inhibición de GABA en las neuronas, de manera que alcanza la función ansiolítica significativa. Además, el cAMP de azufaifa que es el cAMP no hidrolizable extrínseco puede participar en la metástasis del cAMP en el organismo, simular la función enzimática y aumentar la expresión de cAMP y PKA en el organismo, de manera que alcanza las funciones antidepresivas y ansiolíticas. Por lo tanto, el ginsenósido Rg1 y Rb1 se emparejan con ácido glicirrónico y opcionalmente cAMP de azufaifa; se espera que estas materias primas actúen de forma colectiva para aumentar más el efecto antidepresivo y el efecto ansiolítico de la presente invención.
35 El ginseng, el regaliz y la azufaifa son materiales farmacéuticos y alimentos usados normalmente en la medicina china y se han usado en comidas medicinales nutritivas dietéticas durante varios cientos de años. En esta larga historia clínica y dietética, la seguridad y eficacia del uso combinado de ginseng, regaliz y azufaifa se han probado suficientemente. La investigación de los inventores y los resultados experimentales han mostrado que si estos tres materiales farmacéuticos se cuecen solo normalmente y se extraen para obtener el extracto, el extracto no tiene efectos significativos antidepresivos y ansiolíticos en comparación con los compuestos farmacéuticos antidepresivos y ansiolíticos convencionales de la actual tecnología. Sin embargo, tras purificación adicional del extracto de estos tres materiales farmacéuticos par aumentar la concentración de los componentes efectivos que contienen ginsenósido Rg1 y Rb1, ácido glicirrónico y opcionalmente cAMP de azufaifa, etc., como se describe en esta invención, se obtiene una composición farmacéutica con función antidepresiva y ansiolítica significativa. El resultado experimental ha probado que la presente invención tiene efectos antidepresivos y ansiolíticos significativos en comparación con los compuestos farmacéuticos convencionales, Paroxetina y Diazepam, para tratar la depresión y el trastorno de ansiedad respectivamente. El residuo resultante de los tres materiales farmacéuticos después de la extracción y purificación se recogió también y se ensayó en experimentos con animales. Aunque el residuo contiene una cantidad traza de ginsenósido Rg1 y Rb1, ácido glicirrónico y cAMP de azufaifa, no muestra funciones antidepresivas y ansiolíticas significativas en los experimentos con animales. De forma importante, tomar ginseng, regaliz y azufaifa no generaría los efectos secundarios de los compuestos farmacéuticos antidepresivos y ansiolíticos convencionales de la actual tecnología. Los pacientes no necesitarán preocuparse por los efectos secundarios por lo que no cesarán o rechazarán la terapia farmacéutica para siempre. Por lo tanto, el inventor aduce
50 que el ginsenósido Rg1 y Rb1, ácido glicirrónico y opcionalmente cAMP de azufaifa son las materias primas para fabricar la composición farmacéutica o el alimento natural para tratar la depresión y el trastorno de ansiedad. En particular, el nuevo esquema técnico ofrece funciones y componentes definitivos, alta seguridad para el uso a largo plazo sin efectos secundarios, mejorando sustancialmente los inconvenientes generados en la técnica anterior.

60 El ácido glicirretínico tiene mayor liposolubilidad que el ácido glicirrónico y puede entrar fácilmente en el cerebro a través de la barrera sangre-cerebro. Como el ácido glicirrónico se convierte a ácido glicirretínico en el cuerpo humano

con casi el 100% de eficiencia, la inhibición de CAPD mediante el ácido glicirricico se desarrolla transformando el ácido glicirricico a ácido glicirretínico en el cuerpo. Por consiguiente, el ácido glicirricico o ácido glicirretínico puede ser la materia prima para la fabricación de la composición farmacéutica de la presente invención.

- 5 De acuerdo con un aspecto de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica para usar en el tratamiento de al menos uno de una depresión y un trastorno de ansiedad. La composición farmacéutica incluye: ginsenósido Rg1 y Rb1; el ácido glicirricídicamente relacionado que es uno seleccionado de un grupo que consiste en ácido glicirricico, ácido glicirretínico y una combinación de los mismos; y opcionalmente cAMP de azufaifa; todos estos componentes están presentes en la composición en las cantidades que se especifican en las reivindicaciones.
- 10 La composición farmacéutica incluye 2~25 partes en peso de ginsenósido, 3~46 partes en peso del ácido glicirricídicamente relacionado y opcionalmente 0,002~0,4 partes en peso de cAMP de azufaifa.
- Preferiblemente, la composición farmacéutica incluye 4~12 partes en peso de ginsenósido, 5~15 partes en peso del ácido glicirricídicamente relacionado y opcionalmente 0,01~0,08 partes en peso de cAMP de azufaifa.
- Preferiblemente, el ginsenósido se extrae del ginseng, el ácido glicirricídicamente relacionado se extrae del regaliz y el cAMP de azufaifa se extrae de la azufaifa.
- 15 Preferiblemente, la azufaifa se extrae para obtener un primer extracto que tiene una primera concentración de cAMP de azufaifa, el primer extracto se extrae adicionalmente para obtener un segundo extracto que tiene una segunda concentración de cAMP de azufaifa, la segunda concentración de cAMP de azufaifa es mayor que la primera concentración de cAMP de azufaifa, y el segundo extracto está siendo una materia prima en la composición farmacéutica.
- 20 De acuerdo con otro aspecto de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica usada preferiblemente para tratar una depresión y un trastorno de ansiedad. La composición farmacéutica incluye: ginsenósido; y un ácido glicirricídicamente relacionado que es uno seleccionado del grupo que consiste en ácido glicirricico, ácido glicirretínico y una combinación de los mismos; todos estos componentes están presentes en la composición en las cantidades como se especifica en las reivindicaciones.
- 25 Específicamente, la composición farmacéutica comprende 2~25 partes en peso de un ginsenósido que tiene un Rg1 y un Rb1, y 3~46 partes en peso de un ácido glicirricídicamente relacionado seleccionado del grupo que consiste en ácido glicirricico, ácido glicirretínico y una combinación de los mismos.
- Preferiblemente, la composición farmacéutica incluye 4~12 partes en peso de ginsenósido y 5~15 partes en peso del ácido glicirricídicamente relacionado.
- 30 De acuerdo con otro aspecto de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica para el uso en el tratamiento de una depresión y un trastorno de ansiedad. La composición farmacéutica incluye ginseng, regaliz y opcionalmente azufaifa; todos estos componentes están presentes en la composición en las cantidades que se especifican en las reivindicaciones.
- 35 La composición farmacéutica incluye 4~60 partes en peso de ginseng, 2~30 partes en peso de regaliz y opcionalmente 2~40 partes en peso de azufaifa.
- Preferiblemente, la composición farmacéutica incluye 10~28 partes en peso de ginseng, 5~14 partes en peso de regaliz y opcionalmente 4~18 partes en peso de azufaifa.
- Preferiblemente, la composición farmacéutica incluye además al menos uno de un vehículo farmacológicamente aceptable y un aditivo.
- 40 Preferiblemente, la composición farmacéutica tiene una forma de dosificación seleccionada de un grupo que consiste en un comprimido, una cápsula, un material pulverulento, una píldora, un polvo, una disolución, una microcápsula, una suspensión, una emulsión, una partícula, un comprimido efervescente y un rollo.
- Preferiblemente, la composición farmacéutica se fabrica como uno de un alimento natural y un suplemento nutricional.
- 45 Además, un método de preparación de una composición farmacéutica que contiene cAMP de azufaifa para tratar una depresión y un trastorno de ansiedad se describe aunque no se reivindica per se. El método de preparación incluye las etapas de: (a) extraer azufaifa para obtener un primer extracto que tiene una primera concentración de cAMP de azufaifa; y (b) purificar el primer extracto para obtener un segundo extracto que tiene una segunda concentración de cAMP de azufaifa. La segunda concentración de cAMP de azufaifa es mayor que la primera concentración de cAMP de azufaifa.
- 50 Preferiblemente, la etapa (b) se procesa cromatografiando el primer extracto con una resina macroporosa unida con un grupo aldehído.

Preferiblemente, la etapa (b) incluye además las etapas de: (b1) cromatografiar el primer extracto con una resina macroporosa OU-2 unida con el grupo aldehído; y (b2) cromatografiar el primer extracto con una resina macroporosa ME-2 unida con el grupo aldehído.

5 Un método para preparar cAMP de azufaifa se describe pero no se reivindica per se. El método incluye las etapas de: (a) extraer azufaifa para obtener un primer extracto; y (b) cromatografiar el primer extracto con una resina macroporosa que tiene un grupo aldehído unido a ella.

Los objetivos y ventajas anteriores de la presente invención serán más fácilmente evidentes a los expertos en la técnica después de revisar las siguientes descripciones detalladas y dibujos de acompañamiento, en que:

10 La Fig. 1 es un diagrama de flujo que muestra un método de preparación de una composición farmacéutica de acuerdo con una primera realización preferida de la presente invención;

La Fig. 2 es un diagrama de flujo que muestra un método de preparación de una composición farmacéutica de acuerdo con una segunda realización preferida de la presente invención;

La Fig. 3 es un diagrama de flujo que muestra un método de preparación de una composición farmacéutica de acuerdo con una tercera realización preferida de la presente invención;

15 La Fig. 4 es un diagrama de flujo que muestra un método de preparación de una composición farmacéutica de acuerdo con una cuarta realización preferida de la presente invención;

La Fig. 5 es un diagrama de flujo que muestra un método de preparación de una composición farmacéutica de acuerdo con una quinta realización preferida de la presente invención; y

20 La Fig. 6 es un diagrama de flujo que muestra un método de preparación de una composición farmacéutica de acuerdo con una sexta realización preferida de la presente invención.

La presente invención se describirá ahora más específicamente con referencia a las siguientes realizaciones.

Para conseguir el propósito de la presente invención, los esquemas técnicos de la presente invención se proporcionan particularmente como sigue.

25 Una composición farmacéutica para tratar depresión y/o trastorno de ansiedad se describe en la presente invención, y la composición farmacéutica se fabrica incluyendo las materias primas de ginsenosido Rg1 y Rb1, ácido glicirrónico y/o cAMP de azufaifa.

Ejemplo 1:

La composición farmacéutica para tratar la depresión y el trastorno de ansiedad se fabrica a partir de las materias primas que incluyen ginseng y regaliz.

30 Ejemplo 2:

La composición farmacéutica para tratar la depresión y el trastorno de ansiedad se fabrica a partir de las materias primas que incluyen 4~60 partes en peso de ginseng y 2~30 partes en peso de regaliz.

Ejemplo 3:

35 La composición farmacéutica para tratar la depresión y el trastorno de ansiedad se fabrica a partir de las materias primas que incluyen 10~28 partes en peso de ginseng y 5~14 partes en peso de regaliz.

Ejemplo 4:

La composición farmacéutica para tratar la depresión y el trastorno de ansiedad se fabrica a partir de las materias primas que incluyen ginseng, regaliz y azufaifa.

Ejemplo 5:

40 La composición farmacéutica para tratar la depresión y el trastorno de ansiedad se fabrica a partir de las materias primas que incluyen 4~60 partes en peso de ginseng, 2~30 partes en peso de regaliz y 2~40 partes en peso de azufaifa.

Ejemplo 6:

45 La composición farmacéutica para tratar la depresión y el trastorno de ansiedad se fabrica a partir de las materias primas que incluyen 10~28 partes en peso de ginseng, 5~14 partes en peso de regaliz y 4~18 partes en peso de azufaifa.

Ejemplo 7:

La composición farmacéutica para tratar la depresión y el trastorno de ansiedad se fabrica a partir de las materias primas que incluyen ginsenósido Rg1 y Rb1, y ácido glicirrónico (o ácido glicirretínico).

Ejemplo 8:

- 5 La composición farmacéutica de la presente invención se fabrica a partir de las materias primas que incluyen un total de 2-25 partes en peso de ginsenósido Rg1 y Rb1, y 3~46 partes en peso de ácido glicirrónico (o ácido glicirretínico).

Ejemplo 9:

La composición farmacéutica de la presente invención se fabrica a partir de las materias primas que incluyen un total de 4~12 partes en peso de ginsenósido Rg1 y Rb1, y 5~15 partes en peso de ácido glicirrónico (o ácido glicirretínico).

10 Ejemplo 10:

La composición farmacéutica de la presente invención se fabrica a partir de las materias primas que incluyen el extracto de ginseng con las partes mencionadas anteriormente en peso de ginsenósido Rg1 y Rb1, y el extracto de regaliz con las partes mencionadas anteriormente en peso de ácido glicirrónico.

Ejemplo 11:

- 15 La composición farmacéutica de la presente invención se fabrica a partir de las materias primas que incluyen ginsenósido Rg1 y Rb1, ácido glicirrónico (o ácido glicirretínico) y cAMP de azufaifa.

Ejemplo 12:

- 20 La composición farmacéutica de la presente invención se fabrica a partir de las materias primas que incluyen un total de 2~25 partes en peso de ginsenósido Rg1 y Rb1, 3~46 partes en peso de ácido glicirrónico (o ácido glicirretínico) y 0,002~0,4 partes en peso de cAMP de azufaifa.

Ejemplo 13:

La composición farmacéutica de la presente invención se fabrica a partir de las materias primas que incluyen un total de 4~12 partes en peso de ginsenósido Rg1 y Rb1, y 5~15 partes en peso de ácido glicirrónico (o ácido glicirretínico) y 0,01~0,08 partes en peso de cAMP de azufaifa.

25 Ejemplo 14:

La composición farmacéutica de la presente invención se fabrica a partir de las materias primas que incluyen el extracto de ginseng con las partes mencionadas anteriormente en peso de ginsenósido Rg1 y Rb1, el extracto de regaliz con las partes mencionadas anteriormente en peso de ácido glicirrónico y el extracto de azufaifa con las partes mencionadas anteriormente en peso de cAMP de azufaifa.

30 Ejemplo 15:

La composición farmacéutica de la presente invención se proporciona, en donde la materia prima que tiene cAMP de azufaifa es el segundo extracto descrito como sigue. Primero, la azufaifa se extrae para obtener el primer extracto, después el primer extracto se extrae de nuevo para obtener el segundo extracto, en donde la concentración de cAMP de azufaifa del segundo extracto es mayor que la del primer extracto.

35 Ejemplo 16:

Se proporciona la composición farmacéutica de la presente invención, en donde el método de preparación de la materia prima que contiene cAMP de azufaifa incluye las etapas de:

(a) Extraer azufaifa para obtener el primer extracto; y

- 40 (b) Extraer el primer extracto para obtener el segundo extracto, y la concentración de cAMP de azufaifa del segundo extracto es mayor que la del primer extracto.

Ejemplo 17:

Se proporciona el método de preparación mencionado anteriormente, en donde la etapa (b) se procesa cromatografiando, absorbiendo y separando cAMP de azufaifa del primer extracto con la resina macroporosa unida con el grupo aldehído.

45

Ejemplo 18:

Se proporciona el método de preparación mencionado anteriormente, en donde la etapa (b) se procesa cromatografiando, absorbiendo y separando cAMP de azufaifa del primer extracto con la resina macroporosa OU-2 unida al grupo aldehído.

5 Ejemplo 19:

Se proporciona el método de preparación mencionado anteriormente, en donde la etapa (b) se procesa adicionalmente cromatografiando, absorbiendo y separando el cAMP de azufaifa del primer extracto con la resina macroporosa ME-2 unida con el grupo aldehído.

Ejemplo 20:

10 La composición farmacéutica de la presente invención puede incluir los vehículos farmacológicamente aceptables, aditivos y la combinación de los mismos.

Ejemplo 21:

15 La composición farmacéutica de la presente invención puede fabricarse como una forma de dosificación, y la forma de dosificación se selecciona de cualquiera de comprimido, cápsula, material pulverulento, píldora, polvo, disolución, microcápsula, suspensión, emulsión, partícula, comprimido efervescente, rollo y la forma de dosificación farmacéutica farmacológicamente oral.

Ejemplo 22:

La composición farmacéutica de la presente invención puede fabricarse como compuestos farmacéuticos, alimento natural y suplementos nutricionales para tratar la depresión y el trastorno de ansiedad.

20 Para conseguir el propósito de la presente invención, los métodos de preparación de la composición farmacéutica se describen como sigue.

Método 1:

25 La composición farmacéutica de la presente invención para tratar la depresión y el trastorno de ansiedad se fabrica a partir de las materias primas de 4~60 partes en peso de ginseng y 2~30 partes en peso de regaliz, y las materias primas de los mismos se extraen y se purifican para obtener el extracto que tiene ginsenósido Rg1 y Rb1, y ácido glicirrónico.

Método 2:

30 La composición farmacéutica de la presente invención para tratar la depresión y el trastorno de ansiedad se fabrica a partir de materias primas que tienen 10~28 partes en peso de ginseng y 5~14 partes en peso de regaliz, y las materias primas de los mismos se extraen y se purifican para obtener el extracto que tiene ginsenósido Rg1 y Rb1, y ácido glicirrónico.

Método 3:

35 La composición farmacéutica de la presente invención para tratar la depresión y el trastorno de ansiedad se fabrica a partir de materias primas que tienen 4~60 partes en peso de ginseng, 2~30 partes en peso de regaliz y 2~40 partes en peso de azufaifa, y las materias primas de los mismos se extraen y se purifican para obtener el extracto que tiene ginsenósido Rg1 y Rb1, ácido glicirrónico y cAMP de azufaifa.

Método 4:

40 La composición farmacéutica de la presente invención para tratar la depresión y el trastorno de ansiedad se fabrica a partir de las materias primas que tienen 10~28 partes en peso de ginseng, 5~14 partes en peso de regaliz y 4~18 partes en peso de azufaifa, y las materias primas de los mismos se extraen y se purifican para obtener el extracto que tiene ginsenósido Rg1 y Rb1, ácido glicirrónico y cAMP de azufaifa.

Método 5:

45 La composición farmacéutica de la presente invención para tratar la depresión y el trastorno de ansiedad se fabrica a partir de las materias primas del extracto que tiene ginsenósido Rg1 y Rb1 extraído y purificado a partir del ginseng, y que tiene ácido glicirrónico extraído y purificado a partir del regaliz, o a partir de las materias primas preparadas que tienen ginsenósido Rg1 y Rb1, y ácido glicirrónico (o ácido glicirretínico, todos los componentes como se describe anteriormente y en las reivindicaciones.

Método 6:

La composición farmacéutica de la presente invención se fabrica a partir de las materias primas de un total de 2~25 partes en peso de ginsenósido Rg1 y Rb1, y 3~46 partes en peso de ácido glicirrónico (o ácido glicirretínico).

Método 7:

- 5 La composición farmacéutica de la presente invención se fabrica a partir de las materias primas de un total de 4~12 partes en peso de ginsenósido Rg1 y Rb1, y ~15 partes en peso de ácido glicirrónico (o ácido glicirretínico).

Método 8:

- 10 La composición farmacéutica de la presente invención para tratar la depresión y el trastorno de ansiedad se fabrica a partir de materias primas del extracto que tiene ginsenósido Rg1 y Rb1 extraído y purificado a partir del ginseng, ácido glicirrónico extraído y purificado de regaliz, y cAMP de azufaifa extraído y purificado a partir de azufaifa, o a partir de las materias primas preparadas del extracto que tiene ginsenósido Rg1 y Rb1, ácido glicirrónico (o ácido glicirretínico) y cAMP de azufaifa, todos los componentes en la cantidad como se describe anteriormente y en las reivindicaciones.

Método 9:

- 15 La composición farmacéutica de la presente invención se fabrica a partir de las materias primas de un total de 2~25 partes en peso de ginsenósido Rg1 y Rb1, 3~46 partes en peso de ácido glicirrónico (o ácido glicirretínico) y 0,002~0,4 partes en peso de cAMP de azufaifa.

Método 10:

- 20 La composición farmacéutica de la presente invención se fabrica a partir de materias primas de un total de 4~12 partes en peso de ginsenósido Rg1 y Rb1, 5~15 partes en peso de ácido glicirrónico (o ácido glicirretínico) y 0,01~0,08 partes en peso de cAMP de azufaifa.

Método 11:

La composición farmacéutica de la presente invención se proporciona, en donde el método de preparación de la materia prima que contiene cAMP de azufaifa incluye las etapas de:

- 25 (a) Extraer azufaifa para obtener e primer extracto; y
(b) Purificar el primer extracto para obtener el segundo extracto, y la concentración de cAMP de azufaifa del segundo extracto es mayor que la del primer extracto.

Método 12:

- 30 Se proporciona el método de preparación mencionado anteriormente, en donde la etapa (b) se procesa cromatografiando, absorbiendo y separando cAMP de azufaifa del primer extracto con la resina macroporosa unida con el grupo aldehído.

Método 13:

- 35 Se proporciona el método de preparación mencionado anteriormente, en donde la etapa (b) se procesa cromatografiando, absorbiendo y separando cAMP de azufaifa del primer extracto con la resina macroporosa OU-2 unida con el grupo aldehído.

Método 14:

Se proporciona el método de preparación mencionado anteriormente, en donde la etapa (b) se procesa adicionalmente cromatografiando, absorbiendo y separando cAMP de azufaifa del primer extracto con la resina macroporosa ME-2 unida con el grupo aldehído.

40 Método 15:

La composición farmacéutica de la presente invención puede incluir los vehículos farmacológicamente aceptables, aditivos y la combinación de los mismos.

Método 16:

- 45 La composición farmacéutica de la presente invención puede fabricarse como una forma de dosificación, y la forma de dosificación se selecciona de cualquiera de comprimido, cápsula, material pulverulento, píldora, polvo, disolución, microcápsula, suspensión, emulsión, partícula, comprimido efervescente, rollo y la forma de dosificación farmacéutica farmacológicamente oral.

Método 17:

5 La composición farmacéutica de la presente invención puede fabricarse como compuestos farmacéuticos, alimentos naturales y suplementos nutrientes para tratar la depresión y el trastorno de ansiedad de acuerdo con los estándares farmacéuticos de la Buena Práctica de Fabricación (GMP) y el método de estándares de producción/fabricación de alimentos naturales.

La realización preferida

La presente invención se ilustra adicionalmente como sigue combinando las figuras y las realizaciones preferidas.

Realización 1:

10 Consulte la Fig. 1, que es el diagrama de flujo que muestra un método de preparación de una composición farmacéutica de acuerdo con una primera realización preferida de la presente invención. En la Fig. 1, después de romperse 20 kg de ginseng (101), el ginseng roto se calienta para la extracción mediante 70% de la disolución de etanol. El ginseng extraído se separa y se purifica mediante cromatografía de columna, y se seca, y se obtienen 0,8 kg del extracto de ginseng que tiene 120 g de ginsenósido Rg1 y Rb1 (102). Además, después de romperse 10 kg de regaliz (103), el regaliz roto se pone en remojo a temperatura ambiente durante 12 horas. El regaliz en remojo se
15 extrae por decocción y sedimentación en alcohol, se concentra y se seca, y se obtienen 2 kg del extracto de regaliz que tienen 200 g de ácido glicirricó (104). Después, se pulverizan y se mezclan 150 g del extracto de ginseng obtenido y 200 g del extracto de regaliz obtenido, y se obtienen 350 g de la composición farmacéutica (que contiene 22,5 g de ginsenósido Rg1 y Rb1, y 20 g de ácido glicirricó) de la presente invención (105).

Realización 2:

20 Consulte la Fig. 2, que es el diagrama de flujo que muestra un método de preparación de una composición farmacéutica de acuerdo con una segunda realización preferida de la presente invención. En la Fig. 2, después de pulverizarse y mezclarse 3,96 g preparados de ácido glicirretínico que tiene una pureza del 96% (202) y 200 g del extracto de ginseng obtenido en la Realización 1 (201), se obtienen 203,96 g de la composición farmacéutica (que contiene 30 g de ginsenósido Rg1 y Rb1, y 3,8 g de ácido glicirretínico) de la presente invención (203).

25 Realización 3:

30 Consulte la Fig. 3, que es el diagrama de flujo que muestra un método de preparación de una composición farmacéutica de acuerdo con una tercera realización preferida de la presente invención. En la Fig. 3, después de pulverizarse y mezclarse 3,4 g del ginsenósido Rg1 preparado que tiene 90% de pureza (301), 7,8 g del ginsenósido Rb1 preparado que tiene 90% de pureza (302) y 36,8 g de ácido glicirricó que tiene 90% de pureza (303), se obtienen 48 g de la composición farmacéutica (que contiene 10 g de ginsenósido Rg1 y Rb1, y 35 g de ácido glicirricó) de la presente invención (304).

Realización 4:

35 Consulte la Fig. 4, que es el diagrama de flujo que muestra un método de preparación de una composición farmacéutica de acuerdo con una cuarta realización preferida de la presente invención. En la Fig. 4, se rompen 4,10 kg de azufaifa (401) y se ponen en remojo en el agua a temperatura ambiente, después la azufaifa en remojo se extrae por decocción y sedimentación en alcohol para obtener el extracto de azufaifa, que se absorbe y se separa adicionalmente mediante las resinas macroporosas OU-2 y ME-2 secuencialmente, y se seca. Treinta (30) g del extracto de azufaifa que contienen 0,3 g de cAMP de azufaifa se obtienen para ser la materia prima para preparar el compuesto farmacéutico de la presente invención (402).

40 Más tarde, después se pulverizan y se mezclan 150 g del extracto de ginseng y 200 g de extracto de regaliz obtenidos en la Realización 1 con 3 g del extracto de azufaifa mencionado anteriormente, y se obtienen 353 g de la composición farmacéutica (que contiene 22,5 g de ginsenósido Rg1 y Rb1, 20 g de ácido glicirricó y 0,03 g de cAMP de azufaifa) de la presente invención (403).

Realización 5:

45 Consulte la Fig. 5, que es el diagrama de flujo que muestra un método de preparación de una composición farmacéutica de acuerdo con una quinta realización preferida de la presente invención. En la Fig. 5, después 150 g del extracto de ginseng (501) y 200 g del extracto de regaliz (502) obtenidos en la Realización 1 se pulverizan y se mezclan respectivamente con 0,5 g de extracto de azufaifa obtenido en la Realización 4 (503), se obtienen 350,5 g de la composición farmacéutica (que contiene 22,5 g de ginsenósido Rg1 y Rb1, 20 g de ácido glicirricó y 0,005 g
50 de cAMP de azufaifa) de la presente invención (504).

Realización 6:

Consulte la Fig. 6, que es el diagrama de flujo que muestra un método de preparación de una composición farmacéutica de acuerdo con una sexta realización preferida de la presente invención. En la Fig. 6, después de

5 pulverizarse y mezclarse 6,8 g del ginsenósido Rg1 preparado que tiene 90% de pureza (601), 15,6 g del ginsenósido Rb1 preparado que tiene 90% de pureza (602), 26 g de ácido glicirretínico que tiene 96% de pureza (603) y 10 g del extracto de azufaifa obtenido en la Realización 4 (604), se obtienen 58,4 g de la composición farmacéutica (que contiene 20 g de ginsenósido Rg1 y Rb1, 25 g de ácido glicirretínico y 0,1 g de cAMP de azufaifa) de la presente invención (605).

Experimento 1: La influencia de la Realización 1 en el experimento del colgado de la cola de ratón

1.1 Animales experimentales: ratones ICR, machos, 22,0±2 g de peso corporal, secundarios, se proporcionan por el Departamento de Ciencia Animal Experimental de la Universidad Médica de la Capital, Beijing.

10 1.2 Compuestos farmacéuticos experimentales: el compuesto farmacéutico de la Realización 1 se proporciona por Beijing Wonner Biotech. Ltd. Co., y la Paroxetina (Paxil) es el producto de Zhong Mei Tianjin Smith Kline pharmaceuticals Co. Ltd.

1.3 Equipo experimental: cronómetro.

1.4 Diseños de dosis: 1. Alta dosis de la Realización 1 (80 mg/kg/d); 2. Dosis media de la Realización 1 (40 mg/kg/d); y 3. Dosis baja de la Realización 1 (20 mg/kg/d).

15 1.5 Método experimental y resultado:

20 1.5.1 División en grupos y administración del fármaco: los ratones se agrupan aleatoriamente, y 10 ratones están en cada grupo. 1. Alta dosis de la Realización 1 (80 mg/kg, por oral (P.O.), administrado durante 7 días); 2. Dosis media de la Realización 1 (40 mg/kg, P.O., administrado durante 7 días); 3. Dosis baja de la Realización 1 (20 mg/kg, P.O., administrado durante 7 días); 4. Paroxetina (3 mg/kg, P.O., administrado durante 7 días); y 5. Solución salina fisiológica (P.O.). Después de 1 hora de la última administración del fármaco, se realiza el experimento de colgado de la cola del ratón.

1.5.2. Método experimental: la cola del ratón (1 cm al final de la cola) se pega en la tira de madera más alta que la plataforma por 5 cm y se cuelga durante 6 minutos. El tiempo sin movimiento del ratón durante los últimos 5 minutos se graba.

25 1.5.3 Cálculo estadístico: los datos experimentales se representan como $\bar{x} \pm DE$, y el resultado experimental se calcula como análisis de varianza (ANOVA) mediante software estadístico SPSS 11.5.

1.5.4 Resultado experimental: consulte la Tabla 1.

Tabla 1. La influencia de la Realización 1 en el tiempo sin movimiento del ratón

Grupo	Número de animales	Tiempo sin movimiento (s)
Solución salina fisiológica (control)	10	113,22±21,18
Paroxetina	10	75,33±22,91*
Dosis alta de la Realización 1	10	54,67±26,38**
Dosis media de la Realización 1	10	72,68±27,06*
Dosis baja de Realización 1	10	95,26±49,91

En comparación con el grupo de control: *P <0,05, y **P <0,01.

30 Conclusión: según el experimento anterior, puede encontrarse que las dosis alta y media de la Realización 1 de la presente invención y la Paroxetina disminuyeron todas el tiempo sin movimiento después de colgarse la cola del ratón, significativamente diferente del grupo fisiológico (control). Por lo tanto, puede extrapolarse la Realización 1 de la presente invención que tiene función de depresión anti-experimental.

35 Experimento 2: La influencia de la Realización 1 en el experimento de disminución de temperatura corporal del ratón inducida por Resetpina.

2.1 Animales experimentales: ratones ICR, machos, 22,0±2 g de peso corporal, secundarios, se proporcionan por el Departamento de Ciencia Animal Experimental de la Universidad Médica de la Capital, Beijing.

40 2.2 Compuestos farmacéuticos experimentales: el compuesto farmacéutico de la Realización 1 se proporciona por Beijing Wonner Biotech. Ltd. Co., la Paroxetina (Paxil) es el producto de Zhong Mei Tianjin Smith Kline pharmaceuticals Co. Ltd., y la Resetpina es el producto de Guangdong BangMin Pharmaceutical Co., Ltd.

2.3 Equipos experimentales: termómetro electrónico (modelo: GM222) y cronómetro.

2.4 Diseños de dosis: 1. Alta dosis de la Realización 1 (80 mg/kg/d); 2. Dosis media de la Realización 1 (40 mg/kg/d); y 3. Dosis baja de la Realización 1 (20 mg/kg/d).

2.5 Método experimental y resultado:

- 5 2.5.1 División en grupos y administración del fármaco: los ratones se agrupan aleatoriamente, y 10 ratones están en cada grupo. 1. Alta dosis de la Realización 1 (80 mg/kg, P.O., administrada durante 7 días); 2. Dosis media de la Realización 1 (40 mg/kg, P.O., administrada durante 7 días); 3. Dosis baja de la Realización 1 (20 mg/kg, P.O., administrada durante 7 días); 4. Paroxetina (3 mg/kg, P.O., administrada durante 7 días); y 5. Solución salina fisiológica (P.O.).
- 10 2.5.2 Método experimental: después de 1 hora de la última administración del fármaco en el octavo día, se determina la temperatura anal del ratón. Después se dan 2 mg de Resetpina por kilogramo de peso corporal por inyección intraperitoneal. Después de 4 horas de la inyección de Resetpina, se determina de nuevo la temperatura anal del ratón. La profundidad y tiempo de inyección del termómetro en el ano del ratón son idénticos en cada medida de temperatura.
- 15 2.5.3 Cálculo estadístico: los datos experimentales se representan como $\bar{X} \pm DE$, y el resultado experimental se calcula como ANOVA mediante software estadístico SPSS 11.5.
- 2.5.4 Resultado experimental: consulte la Tabla 2

Tabla 2. La influencia de la Realización 1 en la temperatura corporal disminuida del ratón inducida por Resetpina

Grupo	Número de animales	Temperatura disminuida (°C)
Solución salina fisiológica (control)	10	3,65±0,77
Paroxetina	10	2,38±0,69**
Dosis alta de la Realización 1	10	1,85±1,01**
Dosis media de la Realización 1	10	2,05±1,03**
Dosis baja de la Realización 1	10	2,35±0,69**

En comparación con el grupo de control: *P <0,05, y **P <0,01.

20 Conclusión: según el experimento anterior, puede encontrarse que las dosis alta, media y baja de la Realización 1 de la presente invención y la Paroxetina disminuyeron todas la temperatura corporal reducida inducida por Resetpina, y significa que las funciones de depresión anti-experimental podrían estar relacionadas con y afectarían a la cantidad de neurotransmisor monoamina. Por lo tanto, puede extrapolarse la Realización 1 de la presente invención que tiene función de depresión anti-experimental.

25 Experimento 3: La influencia de la Realización 1 en el experimento de transición luz-oscuridad del ratón

3.1 Animales experimentales: ratones Kunming (KM), machos, 24~26 g de peso corporal, secundarios, se proporcionan por el Departamento de Ciencia Animal Experimental de la Universidad Médica de la Capital, Beijing.

3.2 Compuestos farmacéuticos experimentales: el compuesto farmacéutico de la Realización 1 se proporciona por Beijing Wonner Biotech. Ltd. Co., y el Diazepam es el producto de Tianjin Jinhuei Amino Acid Co. Ltd.

30 3.3 Equipo experimental: cámara de transición luz-oscuridad de fabricación propia.

3.4 Diseños de dosis: 1. Alta dosis de la Realización 1 (80 mg/kg/d); 2. Dosis media de la Realización 1 (40 mg/kg/d); y 3. Dosis baja de la Realización 1 (20 mg/kg/d).

3.5 Método experimental y resultado:

35 3.5.1 División en grupos y administración del fármaco: los ratones se agrupan aleatoriamente como 5 grupos, y 10 ratones están en cada grupo. 1. Alta dosis de la Realización 1 (80 mg/kg); 2. Dosis media de la Realización 1 (40 mg/kg); 3. Dosis baja de la Realización 1 (20 mg/kg); 4. Diazepam (2,5 mg/kg); y 5. Solución salina fisiológica (solución salina normal, NS). Los fármacos se alimentan al estómago del ratón una vez al día, y se administra al ratón durante 7 días seguidos. En el periodo de administración, el ratón come y bebe libremente, y el experimento se desarrolla después de 1 hora de la última administración de fármaco en el octavo día.

3.5.2 Método experimental:

5 Ensayo de transición luz-oscuridad del ratón: la cámara oscura ocupa un tercio de la cámara de transición luz-oscuridad (44 cm x 21 cm x 21 cm), y la parte superior está tapada. La cámara de luz ocupa dos terceras partes de la misma y está iluminada de forma brillante. Una puerta entre las dos cámaras se dispone para el paso del ratón. El ratón se coloca en el centro de la cámara de luz cuando comienza el ensayo, y la parte trasera del ratón está enfrentada a la cámara oscura. Se determinan las veces que el ratón entra en la cámara oscura y vuelve a la cámara de luz en 10 minutos, y las veces de las mismas están siendo el índice para evaluar la función ansiolítica de los fármacos.

10 3.5.3 Cálculo estadístico: los datos experimentales se representan como $\bar{x} \pm DE$, y el resultado experimental se calcula como ANOVA de un sentido mediante software estadístico SPSS 11.5.

3.5.4 Resultado experimental: consulte la Tabla 3.

Tabla 3. La influencia de la Realización 1 en los tiempos del ensayo de transición luz-oscuridad del ratón

Grupo	Número de animales	Veces de paso de la cámara oscura a la cámara de luz
Dosis alta de la Realización 1	10	11,2±3,84*
Dosis media de la Realización 1	10	13,1±5,38**
Dosis baja de la Realización 1	10	13,5±4,65**
Diazepam	10	11,3±4,54*
Solución salina fisiológica (control)	10	6,2±4,32

En comparación con el grupo de control: *P <0,05, y **P <0,01.

15 3.6 Descripción: El ensayo de transición luz-oscuridad adoptado en el actual experimento se construye en la base de que el ratón odia de forma congénita la luz brillante y el comportamiento de exploración voluntaria al nuevo medio. El compuesto farmacéutico clínico (Diazepam) para tratar la ansiedad en seres humanos y la Realización 1 tienen excelente correlación en la mejora de la función del comportamiento de exploración voluntaria creciente del ratón en este modelo. Según el anterior experimento, puede encontrarse que las dosis alta, media y baja de la Realización 1 de la presente invención y el Diazepam aumentan todos significativamente las veces que el ratón pasa de la cámara oscura a la cámara de luz, y tienen significados estadísticamente mientras se compara con la solución salina fisiológica. El resultado experimental ha probado que la Realización 1 tiene función ansiolítica.

20 3.7 Conclusión: según el resultado experimental anterior, las dosis alta, media y baja de la Realización 1 de la presente invención y el Diazepam aumentan todos significativamente las veces que el ratón pasa de la cámara oscura a la cámara de luz. El resultado representa que la Realización 1 tiene efecto ansiolítico.

25 Experimento 4: La influencia de la Realización 2 en el experimento de colgado de la cola de ratón

4.1 Animales experimentales: ratón ICR, macho, 22,0±2 g de peso corporal, secundario, se proporcionan por el Departamento de Ciencia Animal Experimental de la Universidad Médica de la Capital, Beijing.

30 4.2 Compuestos farmacéuticos experimentales: el compuesto farmacéutico de la Realización 2 se proporciona por Beijing Wonner Biotech. Ltd. Co., y la Paroxetina (Paxil) es el producto de Zhong Mei Tianjin Smith Kline pharmaceuticals Co. Ltd.

4.3 Equipo experimental: cronómetro.

4.4 Diseños de dosis: 1. Alta dosis de la Realización 2 (80 mg/kg/d); 2. Dosis media de la Realización 2 (40 mg/kg/d); y 3. Dosis baja de la Realización 2 (20 mg/kg/d).

4.5 Método experimental y resultado:

35 4.5.1 División en grupos y administración del fármaco: los ratones se agrupan aleatoriamente, y 10 ratones están en cada grupo. 1. Alta dosis de la Realización 2 (80 mg/kg, P.O., administrado durante 7 días); 2. Dosis media de la Realización 2 (40 mg/kg, P.O., administrado durante 7 días); 3. Dosis baja de la Realización 2 (20 mg/kg, P.O., administrado durante 7 días); 4. Paroxetina (3 mg/kg, P.O., administrado durante 7 días); y 5. Solución salina fisiológica (P.O.). Después de 1 hora de la última administración del fármaco, se desarrolla el experimento de colgado de la cola del ratón.

40

4.5.2 Método experimental: la cola del ratón (1 cm al final de la cola) se pega en la tira de madera más alta que la plataforma por 5 cm y se cuelga durante 6 minutos. El tiempo sin movimiento del ratón durante los últimos 5 minutos se graba.

5 4.5.3 Cálculo estadístico: los datos experimentales se representan como $\bar{X} \pm DE$, y el resultado experimental se calcula como ANOVA mediante software estadístico SPSS 11.5.

4.5.4 Resultado experimental: consulte la Tabla 4.

Tabla 4. La influencia de la Realización 2 en la temperatura corporal disminuida del ratón inducida por Resetpina

Grupo	Número de animales	Tiempo sin movimiento (s)
Solución salina fisiológica (control)	10	113,22±21,18
Paroxetina	10	75,33±22,91*
Dosis alta de la Realización 1	10	93,27±36,42
Dosis media de la Realización 1	10	76,21±28,36*
Dosis baja de la Realización 1	10	107,79±32,56

En comparación con el grupo de control: *P <0,05, y **P <0,01.

10 Conclusión: según el experimento anterior, puede encontrarse que la dosis media de la Realización 2 de la presente invención y la Paroxetina disminuyeron todas el tiempo sin movimiento después de que la cola de ratón se colgara, significativamente diferente del grupo fisiológico (control). Por lo tanto, puede extrapolarse la Realización 2 de la presente invención que tiene función de depresión anti-experimental.

Experimento 5: La influencia de la Realización 2 en el experimento de disminución inducida por Resetpina de la temperatura corporal de ratón

15 5.1 Animales experimentales: ratones ICR, machos, 22,0±2 g de peso corporal, secundarios, se proporcionan por el Departamento de Ciencia Animal Experimental de la Universidad Médica de la Capital, Beijing.

5.2 Compuestos farmacéuticos experimentales: el compuesto farmacéutico de la Realización 2 se proporciona por Beijing Wonner Biotech. Ltd. Co., la Paroxetina (Paxil) es el producto de Zhong Mei Tianjin Smith Kline pharmaceuticals Co. Ltd., y la Resetpina es el producto de Guangdong BangMin Pharmaceutical Co., Ltd.

20 5.3 Equipos experimentales: termómetro electrónico (Modelo: GM222) y cronómetro.

5.4 Diseños de dosis: 1. Alta dosis de la Realización 2 (80 mg/kg/d); 2. Dosis media de la Realización 2 (40 mg/kg/d); y 3. Dosis baja de la Realización 2 (20 mg/kg/d).

5.5 Método experimental y resultado:

25 5.5.1 División en grupos y administración del fármaco: los ratones se agrupan aleatoriamente, y 10 ratones están en cada grupo. 1. Alta dosis de la Realización 2 (80 mg/kg, P.O., administrado durante 7 días); 2. Dosis media de la Realización 2 (40 mg/kg, P.O., administrado durante 7 días); 3. Dosis baja de la Realización 2 (20 mg/kg, P.O., administrado durante 7 días); 4. Paroxetina (3 mg/kg, P.O., administrado durante 7 días); y 5. Solución salina fisiológica (P.O.).

30 5.5.2 Método experimental: después de 1 hora de la última administración de fármaco en el octavo día, se determina la temperatura anal del ratón. Después se dan 2 mg de Resetpina por kilogramo de peso corporal mediante inyección intraperitoneal. Después de 4 horas de la inyección de Resetpina, la temperatura anal del ratón se determina de nuevo. La profundidad y tiempo de inyección del termómetro en el ano del ratón son idénticos en cada medida de temperatura.

35 5.5.3 Cálculo estadístico: los datos experimentales se representan como $\bar{X} \pm DE$, y el resultado experimental se calcula como ANOVA mediante software estadístico SPSS 11.5.

5.5.4 Resultado experimental: consulte la Tabla 5.

Tabla 5. La influencia de la Realización 2 en la temperatura corporal disminuida del ratón inducida por Resetpina

Grupo	Número de animales	Tiempo sin movimiento (s)
Solución salina fisiológica (control)	10	3,65±0,77
Paroxetina	10	2,38±0,69**
Dosis alta de la Realización 2	10	2,93±0,74*
Dosis media de la Realización 2	10	2,31±0,82**
Dosis baja de la Realización 2	10	3,21±0,71

En comparación con el grupo de control: *P <0,05, y **P <0,01.

5 Conclusión: según el experimento anterior, puede encontrarse que la dosis media de la Realización 2 de la presente invención y la Paroxetina disminuyen todas la temperatura corporal reducida inducida por Resetpina, y significa que las funciones de depresión anti-experimental podrían estar relacionadas con y verse afectadas por la cantidad de neurotransmisor de monoamina. Por lo tanto, puede extrapolarse la Realización 2 de la presente invención que tiene función de depresión anti-experimental.

Experimento 6: La influencia de la Realización 3 en el experimento de colgado de la cola de ratón

10 6.1 Animales experimentales: ratones ICR, machos, 22,0±2 g de peso corporal, secundarios, se proporcionan por el Departamento de Ciencia Animal Experimental de la Universidad Médica de la Capital, Beijing.

6.2 Compuestos farmacéuticos experimentales: el compuesto farmacéutico de la Realización 3 se proporciona por Beijing Wonner Biotech. Ltd. Co., y la Paroxetina (Paxil) es el producto de Zhong Mei Tianjin Smith Kline pharmaceuticals Co. Ltd.

6.3 Equipo experimental: cronómetro.

15 6.4 Diseños de dosis: 1. Alta dosis de la Realización 3 (80 mg/kg/d); 2. Dosis media de la Realización 3 (40 mg/kg/d); y 3. Dosis baja de la Realización 3 (20 mg/kg/d).

6.5 Método experimental y resultado:

20 6.5.1 División en grupos y administración del fármaco: los ratones se agrupan aleatoriamente, y 10 ratones están en cada grupo. 1. Alta dosis de la Realización 3 (80 mg/kg, P.O., administrado durante 7 días); 2. Dosis media de la Realización 3 (40 mg/kg, P.O., administrado durante 7 días); 3. Dosis baja de la Realización 3 (20 mg/kg, P.O., administrado durante 7 días); 4. Paroxetina (3 mg/kg, P.O. administrado durante 7 días); y 5. Solución salina fisiológica (P.O.). Después de 1 hora de la última administración de fármaco, se desarrolla el experimento de colgado de la cola del ratón.

25 6.5.2. Método experimental: la cola del ratón (1 cm al final de la cola) se pega en la tira de madera más alta que la plataforma por 5 cm y se cuelga durante 6 minutos. El tiempo sin movimiento del ratón durante los últimos 5 minutos se graba.

6.5.3 Cálculo estadístico: los datos experimentales se representan como $\bar{x} \pm DE$, y el resultado experimental se calcula como ANOVA mediante software estadístico SPSS 11.5.

6.5.4 Resultado experimental: consulte la Tabla 6.

Tabla 6. La influencia de la Realización 3 en el tiempo sin movimiento del ratón

Grupo	Número de animales	Tiempo sin movimiento (s)
Solución salina fisiológica (control)	10	113,22±21,18
Paroxetina	10	75,33±22,91*
Dosis alta de la Realización 3	10	70,37±28,14*
Dosis media de la Realización 3	10	76,26±23,81*
Dosis baja de la Realización 3	10	90,40±31,32

En comparación con el grupo de control: *P <0,05, y **P <0,01.

5 Conclusión: según el experimento anterior, puede encontrarse que las dosis alta y media de la Realización 3 de la presente invención y la Paroxetina disminuyeron todas el tiempo sin movimiento después de que se colgara la cola del ratón, significativamente diferente del grupo fisiológico (control). Por lo tanto, puede extrapolarse la Realización 3 de la presente invención que tiene función de depresión anti-experimental.

10 Experimento 7: La influencia de la Realización 3 en el experimento de disminución de temperatura corporal del ratón inducida por Resetpina

7.1 Animales experimentales: ratones ICR, machos, 22,0±2 g de peso corporal, secundarios, se proporcionan por el Departamento de Ciencia Animal Experimental de la Universidad Médica de la Capital, Beijing.

15 7.2 Compuestos farmacéuticos del experimento: el compuesto farmacéutico de la Realización 3 se proporciona por Beijing Wonner Biotech. Ltd. Co., la Paroxetina (Paxil) es el producto de Zhong Mei Tianjin Smith Kline pharmaceuticals Co. Ltd., y la Resetpina es el producto de Guangdong BangMin Pharmaceutical Co., Ltd.

7.3 Equipos experimentales: termómetro electrónico (Modelo: GM222) y cronómetro.

7.4 Diseños de dosis: 1. Alta dosis de la Realización 3 (80 mg/kg/d); 2. Dosis media de la Realización 3 (40 mg/kg/d); y 3. Dosis baja de la Realización 3 (20 mg/kg/d).

7.5 Método experimental y resultado:

20 7.5.1 División en grupos y administración del fármaco: los ratones se agrupan aleatoriamente, y 10 ratones están en cada grupo. 1. Alta dosis de la Realización 3 (80 mg/kg, P.O., administrado durante 7 días); 2. Dosis media de la Realización 3 (40 mg/kg, P.O., administrado durante 7 días); 3. Dosis baja de la Realización 3 (20 mg/kg, P.O., administrado durante 7 días); 4. Paroxetina (3 mg/kg, P.O., administrado durante 7 días); y 5. Solución salina fisiológica (P.O.).

25 2.5.2 Método experimental: después de 1 hora de la última administración de fármaco en el octavo día, se determina la temperatura anal del ratón. Después se dan 2 mg de Resetpina por kilogramo de peso corporal mediante inyección intraperitoneal. Después de 4 horas de la inyección de Resetpina, se determina una vez más la temperatura anal del ratón. La profundidad y tiempo de inyección del termómetro en el ano del ratón son idénticos en cada medida de temperatura.

30 7.5.3 Cálculo estadístico: los datos experimentales se representan como $\bar{x} \pm DE$, y el resultado experimental se calcula como ANOVA mediante software estadístico SPSS 11.5.

7.5.4 Resultado experimental: consulte la Tabla 7.

Tabla 7. La influencia de la Realización 3 en la temperatura corporal disminuida del ratón inducida por Resetpina

Grupo	Número de animales	Temperatura disminuida (°C)
Solución salina fisiológica (control)	10	3,65±0,77
Paroxetina	10	2,38±0,69**
Dosis alta de la Realización 3	10	2,18±0,92**
Dosis media de la Realización 3	10	2,36±0,83**
Dosis baja de la Realización 3	10	2,97±0,67*

En comparación con el grupo de control: *P <0,05, y **P <0,01.

5 Conclusión: según el experimento anterior, puede encontrarse que las dosis alta, media y baja de la Realización 3 de la presente invención y la Paroxetina disminuyeron todas la temperatura corporal reducida inducida por Resetpina, y significa que esas funciones de depresión anti-experimental podrían estar relacionadas y afectadas por la cantidad de neurotransmisor monoamina. Por lo tanto, puede extrapolarse la Realización 3 de la presente invención que tiene función de depresión anti-experimental.

Experimento 8: La influencia de la Realización 4 en el experimento de lesión del bulbo olfativo del ratón.

8.1 Animales experimentales:

10 Modelo de lesión del bulbo olfativo: ratas macho Wistar sanas, secundarias, 330±20 g de peso corporal, se compran de Beijing Vital River Experimental Animal Technology Ltd. Co. (El número de certificado de calidad: SCXK (JING) 2002-2003).

15 7.2 Reactivos y compuestos farmacéuticos: el compuesto farmacéutico de la Realización 4 se proporciona por Beijing Wonner Biotech Ltd. Co. (Lote: 060313), y la Paroxetina es el producto de Zhong Mei Tianjin Smith Kline pharmaceuticals Co. Ltd. (Lote: 04050011). Los compuestos farmacéuticos anteriores se preparan con 0,5% de carboximetilcelulosa sódica (CMC-Na) para alimentación en el estómago. La bencilpenicilina sódica para la inyección es el producto de North China Pharmaceutical Huasheng Co. Ltd. (Lote: S0511204), y los patrones de norepinefrina (NE) y 5-hidrotriptamina (5-HT) son los productos de Sigma Co.. Los demás reactivos están todos comercializados.

20 8.3 Equipos: caja de actividad de campo abierto de fabricación propia, caja de paso al otro lado, instrumento estereotáxico de rata, cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) y aritmómetro de inmunidad a la radiación y de 10 tubos (Modo: DFM-96).

8.4 Métodos experimentales:

25 8.4.1 División en grupos y administración del fármaco: las ratas se agrupan de forma aleatoria en 6 grupos. 1. Grupo falso de terapia; 2. Grupo modelo (control); 3. Alta dosis de la Realización 4 (60 mg/kg/d); 4. Dosis media de la Realización 4 (30 mg/kg/d); 5. Dosis baja de la Realización 4 (15 mg/kg/d); y 6. Paroxetina (2 mg/kg/d). Los fármacos de ensayo y el fármaco positivo se preparan con 0,5% de CMC-Na para la alimentación en el estómago una vez al día.

30 8.4.2 Método de preparación del Modelo: la rata se anestesia por hidrato de cloral. Después de la anestesia la línea media de la fontanela de la rata se corta desde 1 cm antes de la fontanela anterior a 1 cm detrás de la fontanela anterior, y se expone el hueso del cráneo. Las ventanas de la calavera que tienen 2 mm de diámetro se abren desde 8 mm antes de la fontanela anterior y en 2 mm de dos lados de la línea media. El hierro de soldadura eléctrica hecho especialmente se inserta de forma perpendicular en la calavera durante 2 segundos, y se destruye el bulbo olfativo. La esponja hemostática se rellena en las ventanas de la calavera y la piel se cose. Después de la terapia, se dan 35 40.000 unidades de bencilpenicilina sódica por kilogramo de peso corporal mediante inyección intraperitoneal cada cuatro días, y el compuesto farmacéutico ensayado se da de forma continua durante 24 días.

8.5 Índice de observación:

40 8.5.1 Experimento de actividad de campo abierto: la caja de actividad de campo abierto (1 m x 1 m x 0,4 m) se construye con el contrachapado azul claro y el marco de aleación de aluminio. El fondo de la caja se separa en 25 cuadrículas (20 cm x 20 cm para cada cuadrícula), la circunferencia es las cuadrículas periféricas (16 cuadrículas), y las demás son las cuadrículas centrales (9 cuadrículas). La rata se coloca en el centro de las cuadrículas centrales, y el número de cuadrículas de cruce de la rata (el número de cruces a la cuadrícula vecina con más de 3 patas) y el

número de puestas en pie de la rata (dos extremidades anteriores que dejan el suelo por más de 1 cm) se calculan/observan en 3 minutos.

5 8.5.2 Experimento de evitación pasiva (ensayo de pasar al otro lado): la caja de pasar al otro lado se configura mediante la cámara de luz y la cámara oscura, y se une un canal entre la cámara de luz y la cámara oscura para la entrada y salida del ratón. La reja de la cámara oscura se conecta al equipo de choque eléctrico, y una placa móvil se pone entre medias. Si la rata entra en la cámara oscura, la rata sufrirá un choque eléctrico. Durante el entrenamiento, la rata se coloca en la cámara de luz y después se devuelve al agujero para la adaptación durante 5 minutos. Después la placa se elimina y la rata se observa durante otros 5 minutos. El momento en que la rata entra por primera vez se graba (periodo latente de choque eléctrico), y el tiempo del mismo es la grabación de aprendizaje. Después de 24 horas, el ensayo se repite. La placa se elimina y la cámara oscura se electrifica durante 10 5 minutos para así observar el momento en que la rata entra en la cámara oscura por primera vez. El momento de la misma es la grabación de memoria.

8.6 Cálculo estadístico: los datos experimentales se representan como $\bar{x} \pm DE$, y el resultado experimental se calcula como ANOVA mediante software estadístico SPSS 11.5.

15 8.7 Resultados experimentales:

8.7.1 El resultado del experimento de actividad del campo abierto: consulte la Tabla 8.

Tabla 8. El resultado del modelo de lesión del bulbo olfativo de rata en el experimento de actividad de campo abierto.

Grupo	Número de animales	Movimiento horizontal (número de cuadrículas de cruce)	Movimiento vertical (número de puestas en pie)
Dosis alta de Realización 4	11	49,18±27,68**	10,91±6,91**
Dosis media de Realización 4	11	54,55±23,01	13,45±5,72*
Dosis baja de Realización 4	11	61,82±21,43	15,18±4,47
Paroxetina	11	55,36±25,96*	14,36±5,55
Grupo modelo (control)	11	79,55±24,33	19,09±8,53
Grupo falso de terapia	11	45,36±26,84**	10,45±6,19**

En comparación con el grupo de control: *P <0,05, y **P<0,01.

8.7.2 El resultado del ensayo de pasar al otro lado: consulte la Tabla 9.

20 Tabla 9. El resultado del modelo de lesión del bulbo olfativo de la rata en el ensayo de pasar al otro lado

Grupo	Número de animales	Periodo latente del 1 ^{er} día (s)	Periodo latente del 2 ^o día (s)
Dosis alta de Realización 4	11	187,00±87,59*	289,82±28,59*
Dosis media de Realización 4	11	191,71±72,95*	288,82±37,09*
Dosis baja de Realización 4	11	152,44±76,81	271,18±38,61
Paroxetina	11	181,87±90,54*	265,00±65,39
Grupo modelo (control)	11	111,21±82,93	236,88±74,17
Grupo falso de terapia	11	211,46±82,10**	292,82±14,37*

En comparación con el grupo de control: *P <0,05, y **P<0,01.

25 Conclusión: el resultado del Experimento 8 muestra que la alta dosis de la Realización 4 puede mejorar obviamente el aumento de los movimientos horizontales y verticales de la rata provocados por la lesión del bulbo olfativo, y la dosis media de la Realización 4 también ha mejorado de forma obvia la función en el aumento del movimiento vertical provocado por el modelo de lesión del bulbo olfativo de la rata. Además, las dosis alta y media de la

Realización 4 han mejorado de forma obvia los efectos en las disminuciones de la función de estudio y memoria de la rata provocada por la lesión del bulbo olfativo.

Experimento 9: La influencia de la Realización 4 en el experimento de estímulo a largo plazo impredecible en la rata.

9.1 Animales experimentales:

- 5 Modelo de estímulo a largo plazo impredecible: ratas macho Wistar sanas, secundarias, 240~270 g de peso corporal, se compran en Beijing Vital River Experimental Animal Technology Ltd. Co. (El número de certificado de calidad: SCXK (JING) 2002-2003).

- 10 9.2 Reactivos y compuestos farmacéuticos: el compuesto farmacéutico de la Realización 4 se proporciona por Beijing Wonner Biotech. Ltd. Co. (Lote: 060313) y la Paroxetina es el producto de Zhong Mei Tianjin Smith Kline pharmaceuticals Co. Ltd. (Lote: 04050011). Los compuestos farmacéuticos anteriores se preparan con 0,5% de carboximetilcelulosa sódica (CMC-Na) por alimentación en el estómago. La bencilpenicilina sódica para inyección es el producto de North China Pharmaceutical Huasheng Co. Ltd. (Lote: S0511204), y los patrones de norepinefrina (NE) y 5-hidrotriptamina (5-HT) son los productos de Sigma Co. Los demás reactivos se comercializan todos.

- 15 9.3 Equipos: caja de actividad de campo abierto de fabricación propia, caja de pasar al otro lado, instrumento estereotáxico de rata, cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) y aritmómetro de inmunidad a la radiación y de 10 familias (Modo: DFM-96).

9.4 Método experimental:

- 20 9.4.1 División en grupos y administración del fármaco: las ratas se agrupan aleatoriamente en 6 grupos. 1. Grupo falso de terapia; 2. Grupo modelo (control); 3. Alta dosis de la Realización 4 (60 mg/kg/d); 4. Dosis media de la Realización 4 (30 mg/kg/d); 5. Dosis baja de la Realización 4 (15 mg/kg/d); y 6. Paroxetina (2 mg/kg/d). Los fármacos de ensayo y el fármaco positivo se preparan con 0,5% de CMC-Na para alimentación en el estómago una vez al día.

9.4.2 Método de preparación del Modelo:

- 25 Modelo de estímulo a largo plazo impredecible: las ratas en el grupo de control comen y beben normalmente, y no se realiza estímulo. En los otros 5 grupos, una rata se alimenta en cada jaula, y la rata se somete al estrés/estímulo impredecible de 24 días, que incluye la abstinencia de 24 horas durante 3 veces, 24 horas sin beber durante 3 veces, alojamiento húmedo de 24 horas durante 3 veces (200 ml de agua se añaden a la jaula de la rata), iluminación toda la noche durante 3 veces, nadar a 4°C durante 5 minutos durante 3 veces, calentamiento a 45°C en el horno durante 5 minutos durante 3 veces, sujetar la cola de la rata durante 1 minutos durante 3 veces, y agitación horizontal a alta velocidad de 30 minutos durante 3 veces. Un estímulo se realiza aleatoriamente cada día y un total de 24 días. Cada estímulo no puede realizarse de forma continua. El compuesto farmacéutico se alimenta al estómago de la rata una vez al día y un total de 24 días.

9.5 Índice de observación:

9.5.1 Experimento de actividad de campo abierto: igual que arriba.

- 35 9.5.2 Experimento de evitación pasiva: igual que arriba.

- 40 9.5.3 Ensayo de rata nadando por compulsión: Este experimento se desarrolla durante dos días después de la última administración de fármaco. En el primer día, el experimento se pre-realiza durante 15 minutos. La temperatura del agua en el tanque de cristal es 25°C, y la profundidad de agua es 25 cm. Después de 24 horas, se desarrolla el experimento formal. Después de 1 hora de la administración de fármaco, la rata se coloca en el tanque, y se graba el tiempo sin movimiento de la rata durante los últimos 5 minutos.

9.5.4 Medida de peso corporal: se comparan los valores crecientes antes y después del experimento con cada animal.

- 45 9.5.5 Ensayo de volumen de sacarosa bebida: se compara el volumen de consumo de sacarosa de las ratas. Las ratas de cada grupo beben 1% de la sacarosa durante 1 hora. Los volúmenes bebidos se determinan antes del estímulo y después de 3 semanas del estímulo. Después de que la rata está en abstinencia y agua durante 14 horas, se coloca 1% de la sacarosa en la jaula y se sustituye por el agua potable original. Las diferencias del peso de la botella antes y después de que la rata beba sacarosa durante 1 hora se miden y se graban, y el volumen bebido de sacarosa para cada momento se calcula. Se compara la diferencia del volumen de consumo de sacarosa para cada momento.

- 50 9.5.6 Ensayo HPLC-electroquímico: se miden las cantidades de norepinefrina y 5-hidrotriptamina en la corteza cerebral de la rata.

9.6 Cálculo estadístico: los datos experimentales se representan como $\bar{x} \pm DE$, y el resultado experimental se calcula como ANOVA mediante software estadístico SPSS 11.5.

9.7 Resultado experimental:

9.7.1 Ensayo de volumen de sacarosa bebida: consulte la Tabla 10.

5 Tabla 10. El volumen de consumo de sacarosa de la rata en el modelo de estímulo a largo plazo impredecible

Grupo	Número de animales	Volumen de consumo de sacarosa (g)
Dosis alta de la Realización 4	13	22,55±5,03
Dosis media de la Realización 4	13	26,53±4,99**
Dosis baja de la Realización 4	13	26,97±6,93**
Paroxetina	13	26,29±4,87**
Grupo modelo (control)	13	19,42±4,25
Grupo falso de terapia	13	29,41±3,83**

En comparación con el grupo de control: *P <0,05 y **P <0,01.

9.7.2 El resultado del peso corporal creciente de la rata: consulte la Tabla 11.

Tabla 11. El peso corporal creciente de la rata en el modelo de estímulo a largo plazo impredecible.

Grupo	Número de animales	Tiempo sin movimiento (s)
Dosis alta de la Realización 4	13	86,08±10,84
Dosis media de la Realización 4	13	96,00±11,05**
Dosis baja de la Realización 4	13	95,15±15,46**
Paroxetina	13	96,85±9,30**
Grupo modelo (control)	13	84,92±12,61
Grupo falso de terapia	13	120,54±10,60**

En comparación con el grupo de control: *P <0,05 y **P <0,01.

10 9.7.3 El tiempo sin movimiento de la rata nadando por compulsión: consulte la Tabla 12.

Tabla 12. El tiempo sin movimiento en el modelo de estímulo a largo plazo impredecible del ensayo de la rata nadando por compulsión.

Grupo	Número de animales	Tiempo sin movimiento (s)
Dosis alta de la Realización 4	13	23,28±18,05**
Dosis media de la Realización 4	13	18,95±12,55**
Dosis baja de la Realización 4	13	25,20±13,60*
Paroxetina	13	31,38±19,59
Grupo modelo (control)	13	39,95±17,46
Grupo falso de terapia	13	26,96±12,76*

En comparación con el grupo de control: *P <0,05 y **P <0,01.

9.7.4 El resultado del experimento de actividad de campo abierto: consulte la Tabla 13.

Tabla 13. El resultado del modelo de estímulo a largo plazo impredecible en el experimento de actividad de campo abierto

	Número de animales	Movimiento horizontal (número de cuadrículas de cruce)	Movimiento vertical (número de puestas en pie)
Dosis alta de la Realización 4	14	58,31±15,35*	16,54±4,24**
Dosis media de la Realización 4	14	49,15±14,26	13,54±4,48
Dosis baja de la Realización 4	14	52,62±21,83	16,15±7,32*
Paroxetina	14	61,85±21,68**	14,69±4,2
Grupo modelo (control)	14	39,54±16,31	11,46±3,26
Grupo falso de terapia	14	64,00±11,97**	16,85±3,18**

En comparación con el grupo de control: *P <0,05, y **P<0,01.

5 9.7.5 El resultado del experimento de evitación pasiva de la rata: consulte la Tabla 14.

Tabla 14. El resultado del modelo de estímulo a largo plazo impredecible en el experimento de evitación pasiva de la rata

	Número de animales	Periodo latente del primer día (s)	Periodo latente del segundo día (s)
Dosis alta de la Realización 4	13	65,43±31,44	259,22±56,51
Dosis media de la Realización 4	13	58,18±18,0	212,76±77,27
Dosis baja de la Realización 4	13	75,98±32,22*	204,85±94,99
Paroxetina	13	75,75±46,52*	257,46±66,92
Grupo modelo (control)	13	50,01±15,7	189,25±111,99
Grupo falso de terapia	13	80,00±39,17*	263,38±59,68

En comparación con el grupo de control: *P <0,05, y **P <0,01.

9.7.6 El resultado de los contenidos de NE y 5-HT en la corteza cerebral de la rata: consulte la Tabla 14.

10 Tabla 14. El resultado de los contenidos de NE y 5-HT en la corteza cerebral de la rata en el modelo de estímulo a largo plazo impredecible

	Número de animales	5-HT (nmol/L de extractos de tejido cerebral)	NE (nmol/L de extractos de tejido cerebral)
Dosis alta de la Realización 4	12	230,4157±47,78554*	269,5409±58,86389**
Dosis media de la Realización 4	12	303,4418±70,31711**	227,2976±28,95101**
Dosis baja de la Realización 4	12	332,7343±76,25168**	201,8688±29,80775**
Paroxetina	12	227,0637±46,53838*	220,5419±38,31681**
Grupo modelo (control)	12	179,3866±20,49374	57,6671±77,66958
Grupo falso de terapia	12	228,1478±28,40397*	132,8598±20,84756**

En comparación con el grupo de control: *P <0,05, y **P <0,01.

Conclusión: los resultados del Experimento 9 se muestran como sigue. Las dosis media y baja de la Realización 4 pueden mejorar obviamente el volumen bebido de sacarosa disminuido y el peso corporal disminuido en el estrés/estímulo a largo plazo impredecible. Las dosis alta, media y baja de la Realización 4 aumentan todas obviamente el tiempo sin movimiento en el ensayo de la rata nadando por compulsión. La dosis alta de la Realización 4 puede mejorar obviamente los movimientos horizontales y verticales disminuidos de la rata provocados por el estrés/estímulo a largo plazo impredecible. La dosis baja de la Realización 4 también ha mejorado obviamente la función en el movimiento vertical disminuido de la rata provocado por el estrés/estímulo a largo plazo impredecible. La dosis baja de la Realización 4 tiene la función mejorada en la capacidad de aprendizaje disminuida de la rata provocada por el estrés/estímulo a largo plazo impredecible. Las dosis alta, media y baja de la Realización 4 aumentan todas obviamente los contenidos de NE y 5-HT en la corteza cerebral de la rata.

Experimento 10: La influencia de la Realización 4 en el experimento de transición luz-oscuridad del ratón

10.1 Animales experimentales: ratones Kunming (KM), machos, 24~26 g de peso corporal, secundarios, se proporcionan por el Departamento de Ciencia Animal Experimental de la Universidad Médica de la Capital, Beijing.

10.2 Compuestos farmacéuticos experimentales: el compuesto farmacéutico de la Realización 4 se proporciona por Beijing Wonner Biotech, Ltd. Co., y el Diazepam es el producto de Tianjin Jinhuei Amino Acid Co. Ltd.

10.3 Equipo experimental: caja de transición luz-oscuridad de fabricación propia.

10.4 Diseños de dosis: 1. Alta dosis de la Realización 4 (80 mg/kg/d); 2. Dosis media de la Realización 4 (40 mg/kg/d); y 3. Dosis baja de la Realización 4 (20 mg/kg/d).

10.5 Método experimental y resultado:

10.5.1 División en grupos y administración del fármaco: los ratones se agrupan aleatoriamente como 5 grupos y 10 ratones están en cada grupo. 1. Alta dosis de la Realización 4 (80 mg/kg); 2. Dosis media de la Realización 4 (40 mg/kg); 3. Dosis baja de la Realización 4 (20 mg/kg); 4. Diazepam (2,5 mg/kg); y 5. Solución salina fisiológica (solución salina normal, NS). Los fármacos se alimentan al estómago del ratón una vez al día, y el ratón se administra durante 7 días continuos. En el periodo de administración, el ratón come y bebe libremente, y el experimento se desarrolla después de 1 hora de la última administración de fármaco en el octavo día.

10.5.2 Método experimental:

Ensayo de transición luz-oscuridad del ratón: la cámara oscura ocupa un tercio de la cámara de transición luz-oscuridad (44 cm x 21 cm x 21 cm), y la parte superior se tapa. La cámara de luz ocupa dos tercios de la misma y está iluminada de forma brillante. Una puerta entre dos cámaras se dispone para el paso del ratón. El ratón se coloca en el centro de la cámara de luz cuando comienza el experimento, y la espalda del ratón da a la cámara oscura. Se determinan las veces que el ratón entra en la cámara oscura y vuelve a la cámara de luz en 10 minutos, y las veces de las mismas están siendo el índice para evaluar la función ansiolítica de los fármacos.

10.5.3 Cálculo estadístico: los datos experimentales se representan como $\bar{x} \pm DE$, y el resultado experimental se calcula como ANOVA de un sentido mediante software estadístico SPSS 11.5.

10.5.4 Resultado experimental: consulte la Tabla 16.

Tabla 16. La influencia de la Realización 4 en las veces del experimento de transición luz-oscuridad del ratón.

Grupo	Número de animales	Veces de paso de la cámara oscura a la cámara de luz
Alta dosis de la Realización 4	10	11,6±4,53*
Dosis media de la Realización 4	10	13,9±3,76**
Dosis baja de la Realización 4	10	13,4±4,12**
Diazepam	10	11,7±4,47*
Solución salina fisiológica (control)	10	6,8±3,85

En comparación con el grupo de control: *P <0,05 y **P <0,01.

10.6 Descripción: el experimento de transición luz-oscuridad adoptado en el presente experimento se construye en la base de que el ratón odia de forma congénita la luz brillante y el comportamiento explorador voluntario al nuevo

medio. El compuesto farmacéutico clínico (Diazepam) para tratar la ansiedad en seres humanos y la Realización 4 tienen excelente correlación en la mejora de la función del comportamiento de exploración voluntaria creciente en el modelo de ratón. Según el experimento anterior, puede encontrarse que las dosis alta, medio y baja de la Realización 4 de la presente invención y el Diazepam aumentan todas significativamente las veces que el ratón pasa de la cámara oscura a la cámara de luz, y tienen significados estadísticos mientras se compara con la solución salina normal. El resultado experimental ha probado que la Realización 4 tiene efecto ansiolítico.

10.7 Conclusión: según el resultado experimental anterior, las dosis alta, media y baja de la Realización 4 de la presente invención y el Diazepam aumentan todos significativamente las veces que el ratón pasa de la cámara oscura a la cámara de luz. El resultado representa que la Realización 4 tiene capacidad ansiolítica.

10 Experimento 11: La influencia de la Realización 5 en el experimento de colgado de la cola del ratón.

11.1 Compuestos farmacéuticos del experimento: el compuesto farmacéutico de la Realización 5 se proporciona por Beijing Wonner Biotech. Ltd. Co. (producto de amplificación piloto), y la Paroxetina es el producto de Zhong Mei Tianjin Smith Kline pharmaceuticals Co. Ltd. (Lote: 05070384). Los compuestos farmacéuticos mencionados anteriormente se preparan con solución salina fisiológica para alimentación en el estómago.

15 11.2 Animales experimentales: ratones ICR, machos, 20,0±1 g de peso corporal, secundarios, se proporcionan por el Departamento de Ciencia Animal Experimental de la Universidad Médica de la Capital, Beijing. El número de certificación de calidad de los ratones es SCXK (JING) 2006-2008.

11.3 Equipo experimental: cronómetro

20 11.4 Método: setenta ratones (70) se agrupan aleatoriamente para 5 grupos: grupo de solución salina normal (NS), Paroxetina (3 mg/kg/d), alta dosis de la Realización 5 (80 mg/kg/d), dosis media de la Realización 5 (40 mg/kg/d), y dosis baja de la Realización 5 (20 mg/kg/d). Los compuestos farmacéuticos se alimentan en el estómago del ratón una vez al día. Después de 1 hora de la última administración de fármaco en el octavo día, la cola del ratón (1 cm al final de la cola) se pega en el soporte horizontal en una caja abierta, y el ratón representa el estado colgado revertido. La cabeza de ratón está separada del fondo de la caja abierta por aproximadamente 10 cm, y el ratón está colgado durante 6 minutos. El tiempo sin movimiento del ratón para los últimos 5 minutos se graba.

25 11.5 Cálculo estadístico: los datos experimentales se representan como $\bar{x} \pm DE$, y el resultado experimental se calcula como ANOVA de un sentido mediante software estadístico SPSS 11.5.

11.6 Resultado experimental: el resultado del tiempo sin movimiento del experimento de colgado de la cola de ratón: consulte la Tabla 17.

30 Tabla 17: La influencia de la Realización 5 en el tiempo acumulativo sin movimiento del ratón

Grupo	Número de animales	Dosis (mg/kg/d)	Tiempo sin movimiento (s)
Dosis alta de la Realización 5	14	80	64,75±42,22**
Dosis media de la Realización 5	14	40	55,41±33,83**
Dosis baja de la Realización 5	14	20	62,75±26,61**
Paroxetina	14	3	53,27±20,02**
Grupo de solución salina (NS)	14		113,59±36,11

En comparación con el grupo NS: *P <0,05 y **P <0,01.

35 Conclusión: el resultado de la investigación muestra que las dosis alta, media y baja de la Realización 5 y el compuesto farmacéutico anti-depresivo efectivo clínico, Paroxetina, disminuyen todos obviamente el tiempo acumulativo de no movimiento del colgado de la cola del ratón. Representa que la Reivindicación 5 de la presente invención tiene capacidad de depresión anti-experimental.

Experimento 12: La influencia de la Realización 5 en el experimento del ratón nadando por compulsión.

40 12.1 Compuestos farmacéuticos experimentales: el compuesto farmacéutico de la Realización 5 se proporciona por Beijing Wonner Biotech. Ltd. Co. (producto de ampliación piloto), y la Paroxetina es el producto de Zhong Mei Tianjin Smith Kline pharmaceuticals Co. Ltd. (Lote: 05070384). Los compuestos farmacéuticos mencionados anteriormente se preparan con solución salina fisiológica para la alimentación en el estómago.

12.2 Animales experimentales: ratones ICR, machos, 20,0±1 g de peso corporal, secundarios, se proporcionan por el Departamento de Ciencia Animal Experimental de la Universidad Médica de la Capital, Beijing. El número de certificado de calidad de los ratones es SCXK (JING) 2006-2008.

12.3 Equipo experimental: cronómetro.

5 12.4 Método experimental: el grupo de ratón y la administración de fármacos son idénticas con el experimento de colgado de la cola del ratón. El ratón ensayado en cada grupo desarrolla el experimento después de 1 hora de la administración del fármaco. El ratón se entrena para nadar durante 15 minutos antes del experimento y en el octavo día. Después de 24 horas, el experimento se realiza. El ratón se coloca en agua a 25°C en el tanque de cristal que tiene 10 cm de profundidad de agua, 14 cm de diámetro. El tiempo acumulativo sin movimiento del ratón durante los últimos 5 minutos se graba.

10 12.5 Cálculo estadístico: los datos experimentales se representan como $\bar{x} \pm DE$, y el resultado experimental se calcula como ANOVA de un sentido mediante software estadístico SPSS 11.5.

12.6 Resultado del experimento: el resultado del ratón nadando por compulsión: consulte la Tabla 18.

Tabla 18. La influencia de la Realización 5 en el tiempo del ensayo del ratón nadando por compulsión.

Grupo	Número de animales	Dosis (mg/kg/d)	Tiempo sin movimiento (s)
Dosis alta de la Realización 5	14	80	88,35±51,64*
Dosis media de la Realización 5	14	40	65,87±38,96**
Dosis baja de la Realización 5	14	20	88,12±38,57*
Paroxetina	14	3	57,80±38,07**
Grupo de solución salina (NS)	14		132,47±40,64

En comparación con el grupo NS: *P <0,05 y **P <0,01.

15 Conclusión: el resultado de la investigación muestra que las dosis alta, media y baja de la Realización 5 y el compuesto farmacéutico antidepresivo efectivo clínico, Paroxetina, todos disminuyen de forma obvia el tiempo acumulativo sin movimiento del ensayo del ratón nadando por compulsión. Representa que la Realización 5 de la presente invención tiene capacidad de depresión anti-experimental.

20 Experimento 13:

Nueve (9) kg del residuo de ginseng que queda y 7 kg del residuo de regaliz que queda extraídos de la Realización 1 y la Realización 4 se recogen, se secan, se pulverizan y se mezclan bien para obtener la mezcla de residuos que contiene las cantidades traza de ginsenósido Rg1 y Rb1, ácido glicirrícico y cAMP de azufaifa. Se desarrolla el experimento de control de influencia en el experimento de colgado de cola del ratón.

25 13.1 Animales experimentales: ratones ICR, machos, 22,0±2 g de peso corporal, secundarios, se proporcionan por el Departamento de Ciencia Animal Experimental de la Universidad Médica de la Capital, Beijing.

13.2 Compuestos farmacéuticos del experimento: la mezcla de residuos se proporciona por Beijing Wonner Biotech. Ltd. Co., y la Paroxetina (Paxil) es el producto de Zhong Mei Tianjin Smith Kline pharmaceuticals Co. Ltd.

13.3 Equipo experimental: cronómetro.

30 13.4 Diseños de dosis: 1. Alta dosis de mezcla de residuos (160 mg/kg/d); 2. Dosis media de mezcla de residuos (80 mg/kg/d); y 3. Dosis baja de mezcla de residuos (40 mg/kg/d).

13.5 Método experimental y resultado:

35 13.5.1 División en grupos y administración del fármaco: los ratones se agrupan de forma aleatoria, y 10 ratones están en cada grupo. 1. Alta dosis de mezcla de residuos (160 mg/kg, P.O., administrado durante 7 días); 2. Dosis media de mezcla de residuos (80 mg/kg, P.O., administrado durante 7 días); 3. Dosis baja de mezcla de residuos (40 mg/kg, P.O., administrado durante 7 días); 4. Paroxetina (3 mg/kg, P.O. administrado durante 7 días); y 5. Solución salina fisiológica (P.O.). Después de 1 hora de la última administración de fármaco, se desarrolla el experimento de colgado de la cola de ratón.

13.5.2 Método experimental: la cola del ratón (1 cm al final de la cola) se pega en la tira de madera más arriba a la plataforma por 5 cm y se cuelga durante 6 minutos. El tiempo sin movimiento del ratón durante los últimos 5 minutos se graba.

5 13.5.3 Cálculo estadístico: los datos experimentales se representan como $\bar{X} \pm DE$, y el resultado experimental se calcula como ANOVA mediante software estadístico SPSS 11.5.

13.5.4 Resultado experimental: consulte la Tabla 19.

Tabla 19. La influencia de la mezcla de residuos en el tiempo sin movimiento del ratón

Grupo	Número de animales	Tiempo sin movimiento (s)
Solución salina fisiológica (control)	10	82,03±43,01
Paroxetina	10	38,37±20,76*
Alta dosis de mezcla de residuos	10	76,91±31,09
Dosis media de mezcla de residuos	10	78,89±48,18
Dosis baja de mezcla de residuos	10	81,31±58,68

En comparación con el grupo de control: *P <0,05 y **P <0,01.

10 Conclusión: según el experimento anterior, puede encontrarse que aunque las dosis alta, media y baja de la mezcla de residuos pueden acortar el tiempo sin movimiento del colgado de la cola del ratón, estos tres grupos no tienen importancia en comparación con la solución salina fisiológica (control). Por lo tanto, puede extrapolarse la mezcla de residuos sin función de depresión anti-experimental.

Utilidad industrial

15 Los alcances de la aplicación de la composición farmacéutica de la presente invención para tratar la depresión y el trastorno de ansiedad yacen en que:

1. La composición farmacéutica descrita de la presente invención para tratar la depresión y el trastorno de ansiedad puede incluir los aditivos farmacológicamente aceptables;
2. La composición farmacéutica descrita de la presente invención para tratar la depresión y el trastorno de ansiedad puede fabricarse como las formas de dosificación conocidas, tales como polvo, cápsula y comprimido, etc., y
- 20 3. La composición farmacéutica descrita de la presente invención para tratar la depresión y el trastorno de ansiedad puede fabricarse como el alimento natural para tratar la depresión y el trastorno de ansiedad.

REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica para usar en el tratamiento de una depresión y un trastorno de ansiedad, caracterizada por comprender:
2~25 partes en peso de un ginsenósido que tiene un Rg1 y un Rb1; y
- 5 3~46 partes en peso de un ácido relacionado glicirricídicamente seleccionado del grupo que consiste en ácido glicirrónico, ácido glicirretínico y una combinación de los mismos.
2. La composición farmacéutica para usar según la reivindicación 1 caracterizada por comprender 4~12 partes en peso del ginsenósido y 5~15 partes en peso del ácido relacionado glicirricídicamente.
- 10 3. La composición farmacéutica para usar según la reivindicación 1 además caracterizada por comprender adenosina monofosfato cíclico de azufaifa (cAMP de azufaifa).
4. La composición farmacéutica para usar según la reivindicación 3 caracterizada por comprender 0,002~0,4 partes en peso del cAMP de azufaifa, y preferiblemente caracterizada por comprender 0,01~0,08 partes en peso del cAMP de azufaifa.
- 15 5. La composición farmacéutica para usar según la reivindicación 3, caracterizada por que el ginsenósido se extrae de un ginseng, el ácido relacionado glicirricídicamente se extrae de un regaliz, y el cAMP de azufaifa se extrae de una azufaifa.
- 20 6. La composición farmacéutica para usar según la reivindicación 3, caracterizada por que la azufaifa se extrae para obtener un primer extracto que tiene una primera concentración de cAMP de azufaifa, el primer extracto se extrae adicionalmente para obtener un segundo extracto que tiene una segunda concentración de cAMP de azufaifa, la segunda concentración de cAMP de azufaifa es mayor que la primera concentración de cAMP de azufaifa, y el segundo extracto es una materia prima en la composición farmacéutica.
7. Una composición farmacéutica para usar en el tratamiento de una depresión y un trastorno de ansiedad, caracterizado por comprender 4~60 partes en peso de un ginseng y 2~30 partes en peso de regaliz.
- 25 8. La composición farmacéutica para usar según la reivindicación 7 caracterizada por comprender 10~28 partes en peso del ginseng y 5~14 partes en peso del regaliz.
9. La composición farmacéutica para usar según la reivindicación 7 además caracterizada por comprender una azufaifa.
10. La composición farmacéutica para usar según la reivindicación 9 caracterizada por comprender 2~40 partes en peso de la azufaifa, y preferiblemente caracterizada por comprender 4~18 partes en peso de la azufaifa.
- 30 11. La composición farmacéutica para usar según la reivindicación 7 además caracterizada por comprender al menos uno de un vehículo farmacológicamente aceptable y un aditivo, que tiene una forma de dosificación seleccionada de un grupo que consiste en un comprimido, una cápsula, un material pulverulento, una píldora, un polvo, una disolución, una microcápsula, una suspensión, una emulsión, una partícula, un comprimido efervescente y un rollo, y que se fabrica como uno de un alimento natural y un suplemento nutricional.
- 35 12. Una composición farmacéutica, que comprende 2~25 partes en peso de un ginsenósido que tiene un Rg1 y un Rb1, y 3~46 partes en peso de un ácido relacionado glicirricídicamente seleccionado del grupo que consiste en ácido glicirrónico, ácido glicirretínico y una combinación de los mismos.
13. La composición farmacéutica según la reivindicación 12, en donde la composición farmacéutica se caracteriza además por comprender adenosina monofosfato cíclico de azufaifa (cAMP de azufaifa).
- 40 14. La composición farmacéutica según la reivindicación 12, en donde la composición farmacéutica se fabrica como una seleccionada del grupo que consiste en un compuesto farmacéutico, un alimento natural y un nutriente.

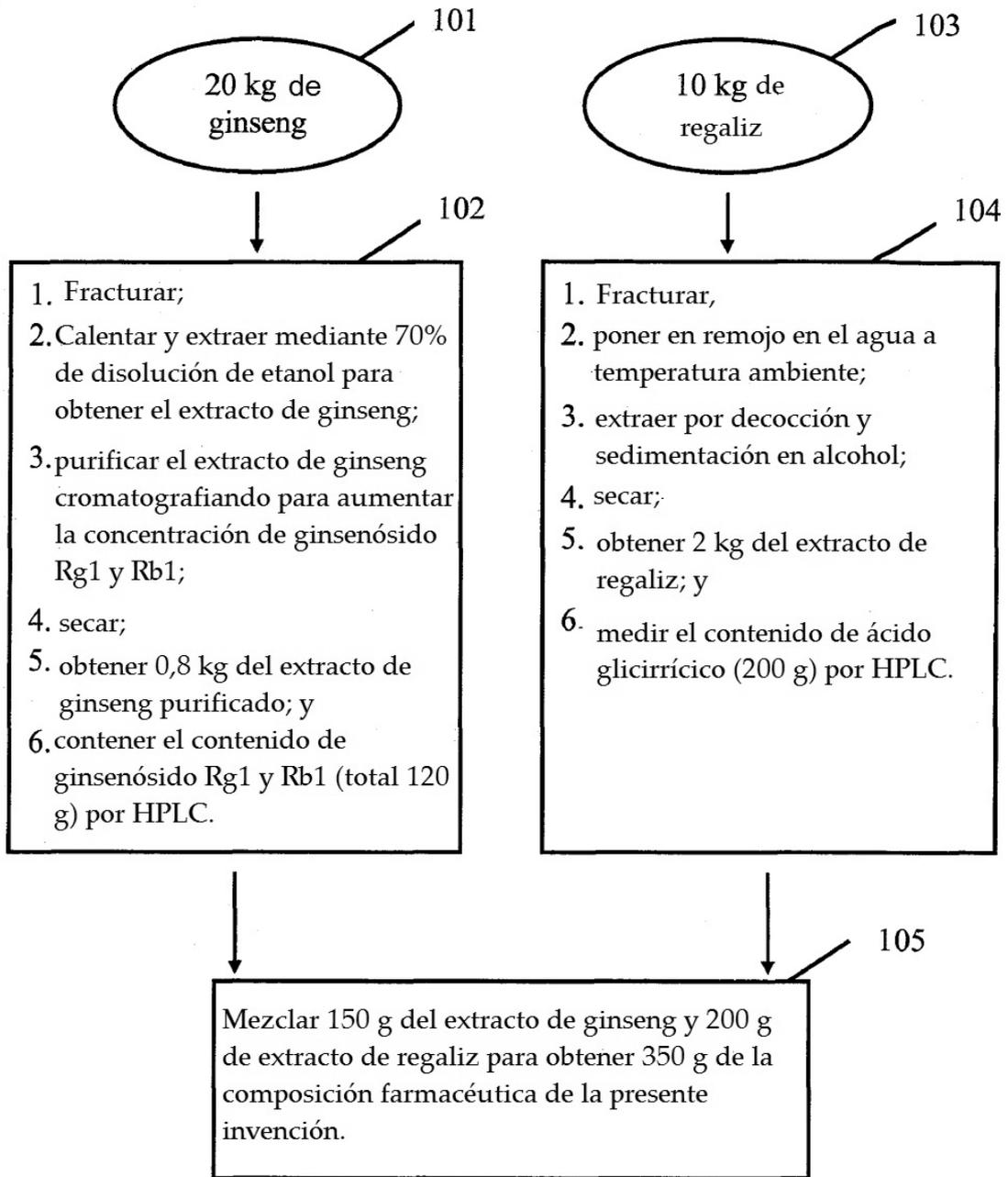


Fig. 1

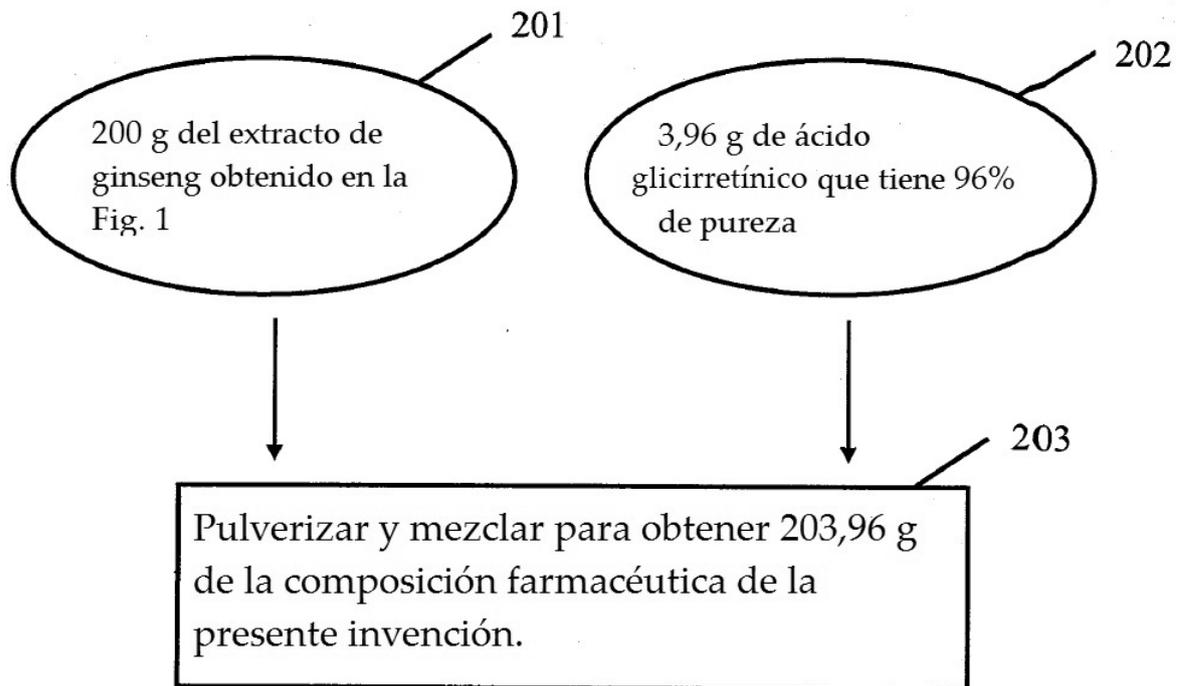


Fig. 2

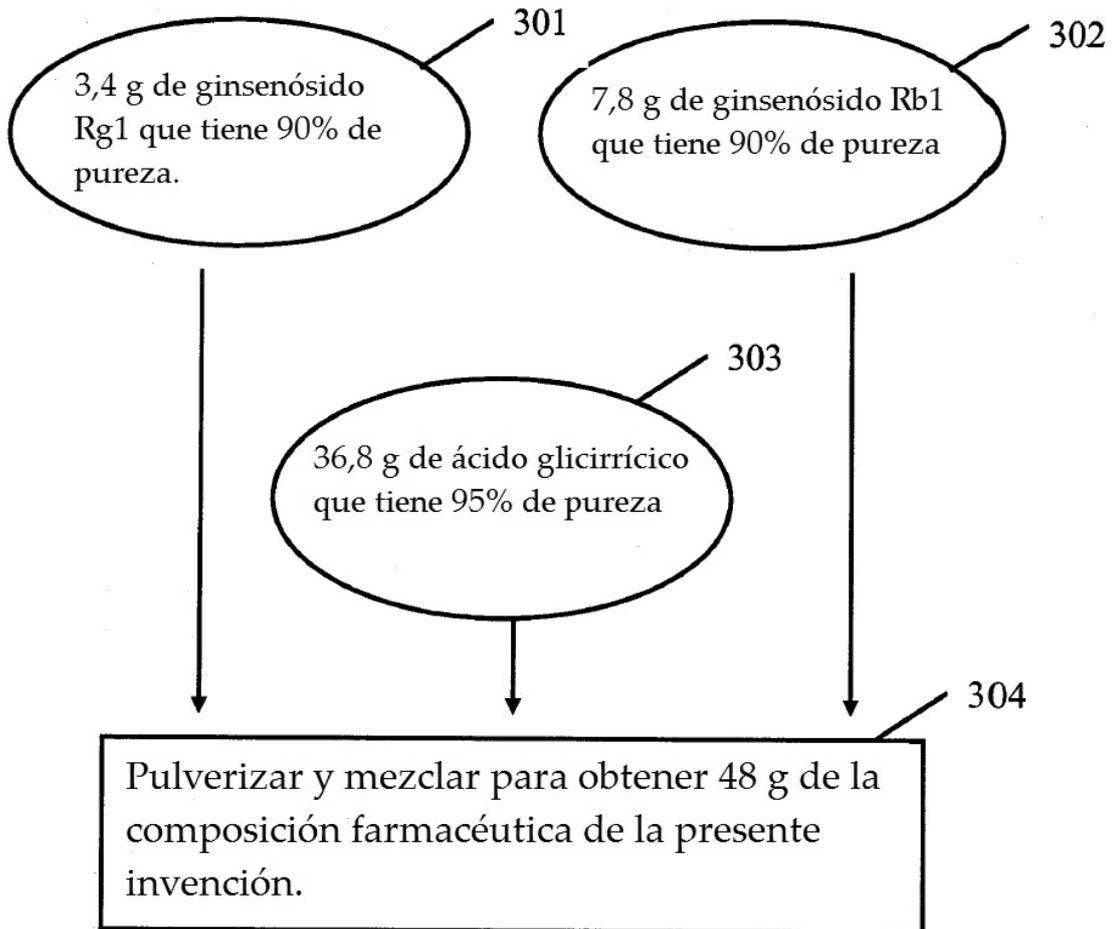


Fig. 3

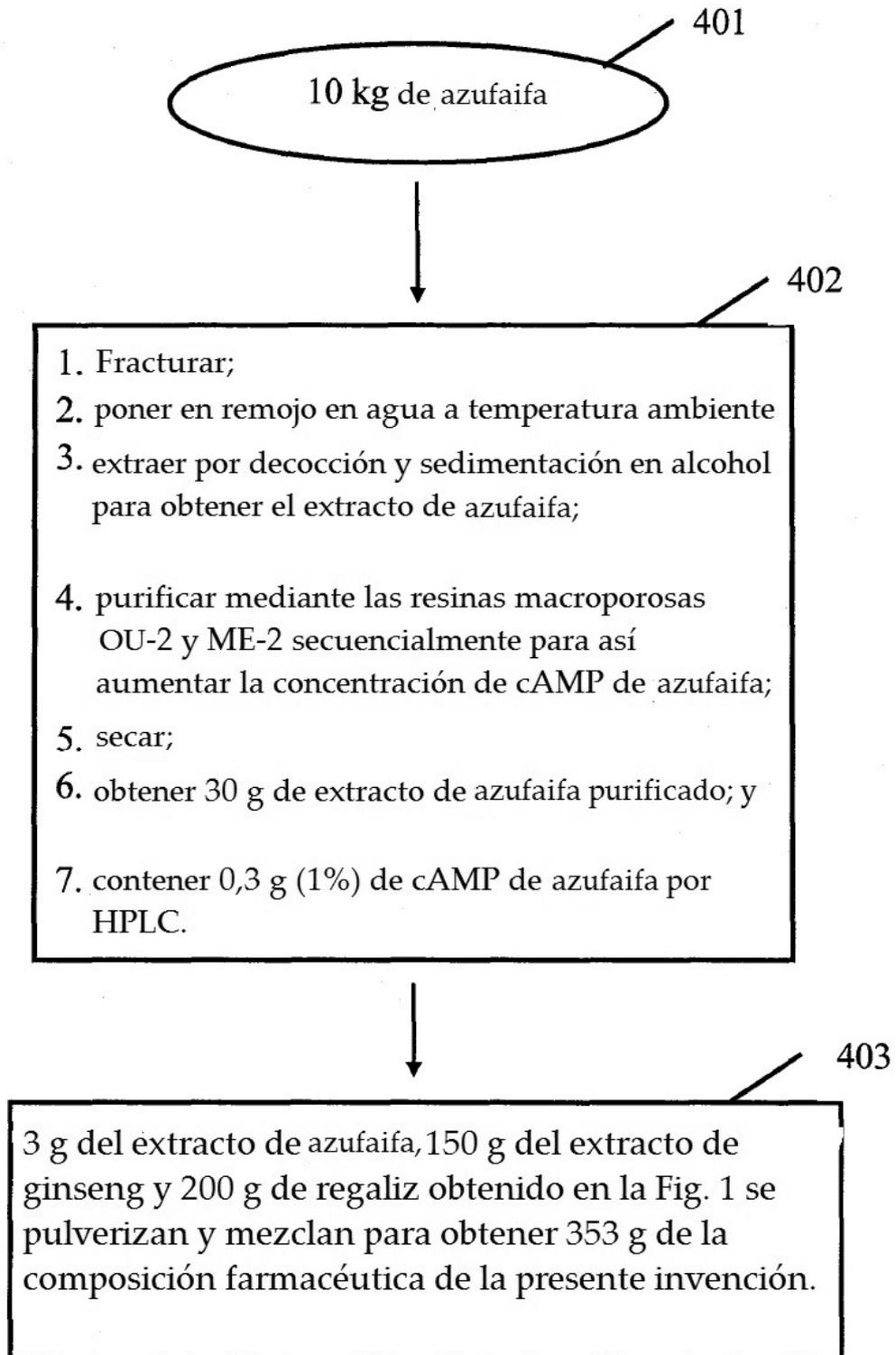


Fig. 4

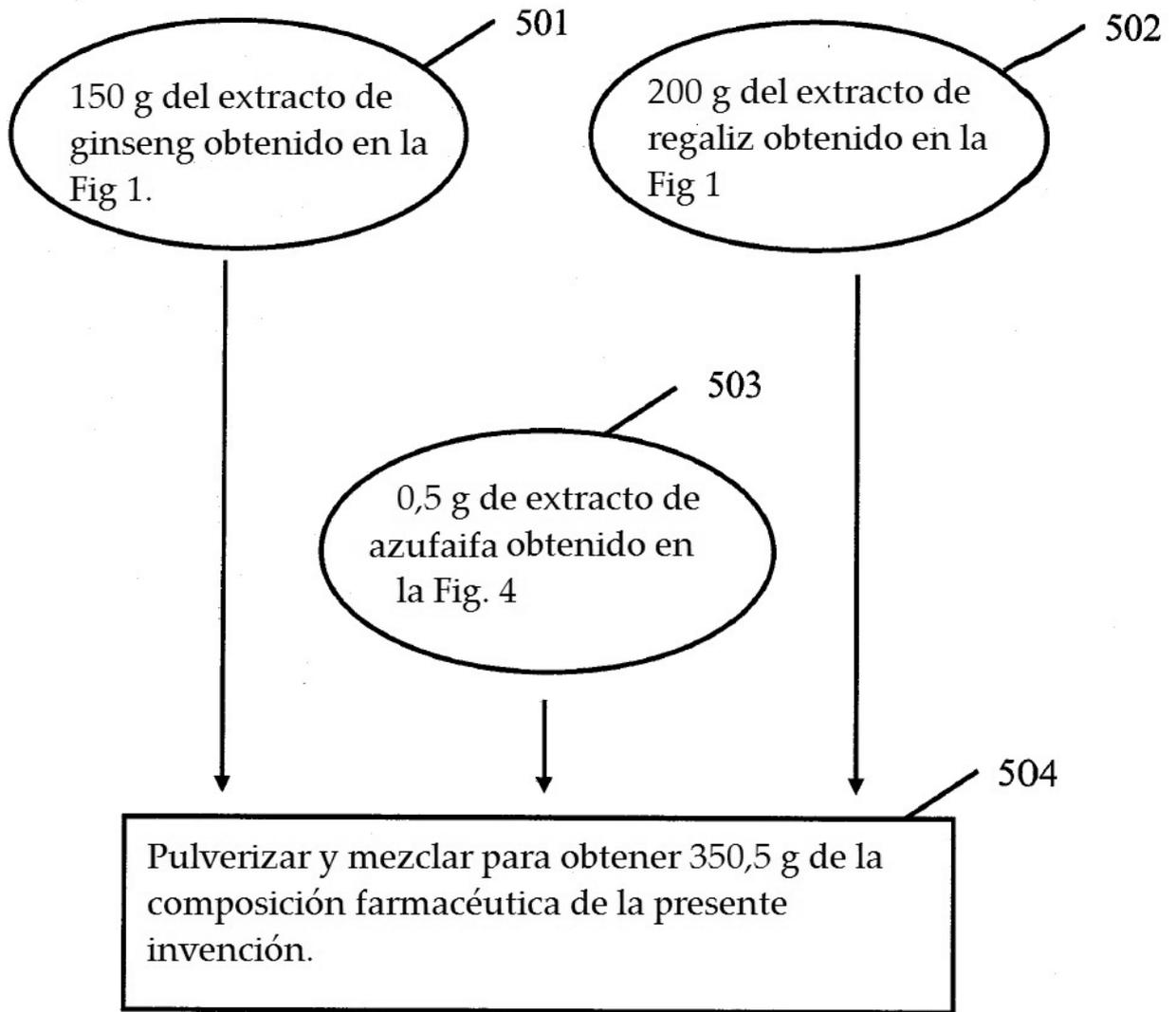


Fig. 5

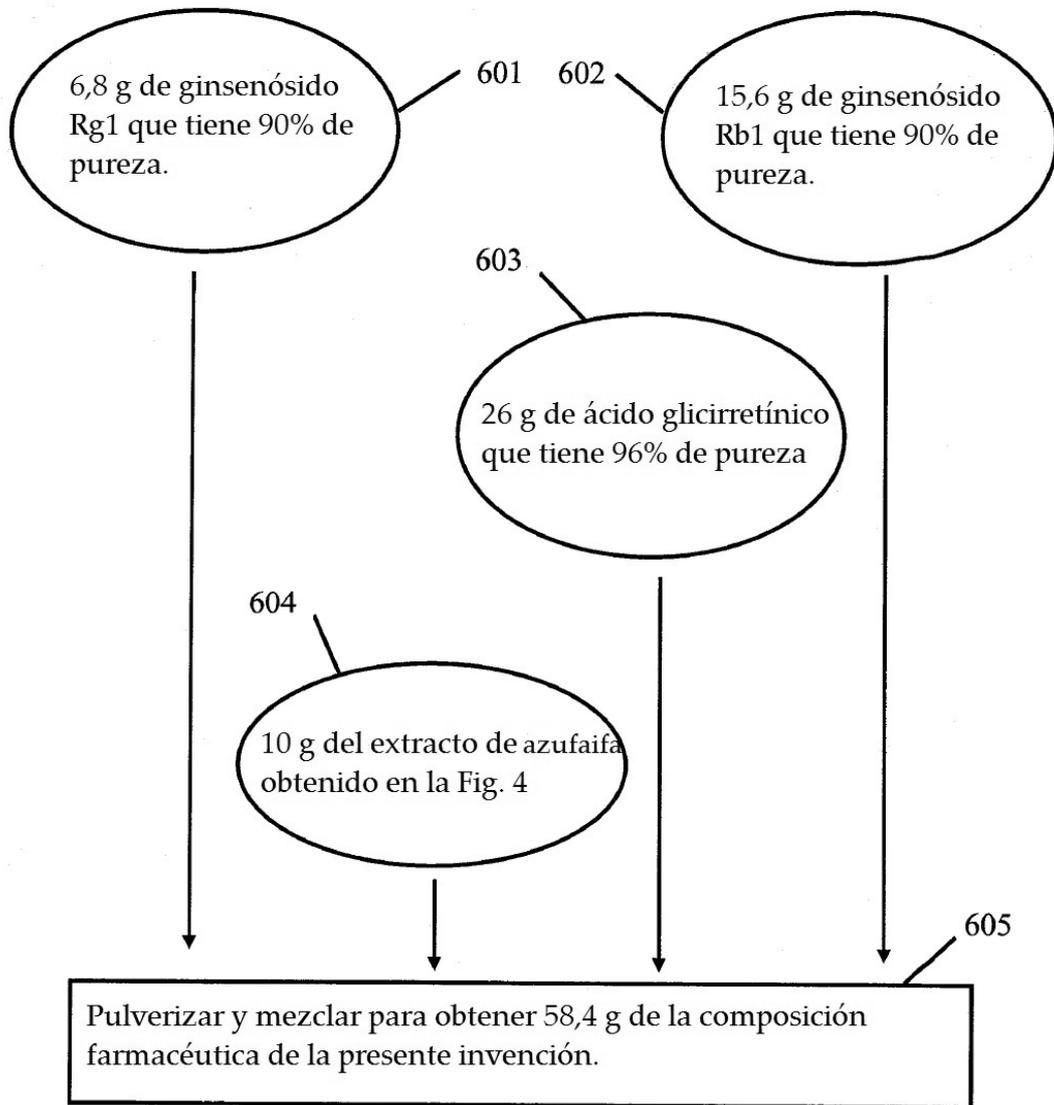


Fig. 6