

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 616 259**

51 Int. Cl.:

A61K 36/899 (2006.01)

A61K 36/734 (2006.01)

A61K 36/8967 (2006.01)

A61P 25/22 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **08.03.2011 PCT/IL2011/000221**

87 Fecha y número de publicación internacional: **15.09.2011 WO2011111039**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.03.2011 E 11715048 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.11.2016 EP 2544700**

54 Título: **Composición a base de plantas para prevenir y/o tratar la ansiedad y afecciones relacionadas**

30 Prioridad:

08.03.2010 US 311537 P

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

12.06.2017

73 Titular/es:

**OPMOP LTD. (50.0%)
1 University Road
43107 Raanana, IL y
KATELY, NADAV (50.0%)**

72 Inventor/es:

**DORON, RAVID y
KATELY, NADAV**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 616 259 T3

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

DESCRIPCIÓN

Composición a base de plantas para prevenir y/o tratar la ansiedad y afecciones relacionadas

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a una nueva composición farmacéutica y nutricional basada en una mezcla de plantas y a su uso en el tratamiento de la ansiedad y el estrés tal como se caracteriza en las reivindicaciones.

Antecedentes de la invención

10 Los trastornos de ansiedad se encuentran entre los diez problemas de salud pública más importantes según la Organización Mundial de la Salud (OMS) y, en los últimos años, han alcanzado proporciones epidémicas. Según las estadísticas del Instituto Nacional Americano de Salud Mental, los trastornos de ansiedad afectan hasta a 19 millones de adultos norteamericanos. Los resultados de la Encuesta Nacional de Salud de Israel indican que el 17 % de la población adulta de Israel indicaron la existencia durante toda la vida de un trastorno del estado de ánimo o ansiedad.

15 Los tratamientos actuales para los trastornos de ansiedad tienen una eficacia limitada en una proporción considerable de los pacientes y se asocian con muchos efectos secundarios (Wong y Licinio, 2004). Las benzodiazepinas, que actúan mediante el aumento de las acciones inhibitorias del GABA (ácido gamma-aminobutírico), son un tratamiento eficaz para los trastornos de ansiedad, pero tienen un problema importante. Estos agentes se prescriben durante períodos cortos solo para evitar el desarrollo de tolerancia y dependencia física. Sin embargo, la naturaleza crónica de los trastornos de ansiedad requiere tratamiento a largo plazo. Este problema provocó una investigación para evaluar la eficacia de otros agentes (Barbui y Cipriani, 2009).

20 Se ha demostrado que los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina, ISRS (por ejemplo, fluoxetina, citalopram, paroxetina), son eficaces en el tratamiento de un amplio espectro de trastornos de ansiedad y pueden usarse como un tratamiento crónico. Sin embargo, en estudios recientes se muestra que sus tasas de éxito para el tratamiento de los trastornos de ansiedad no son altas y alcanzan, como máximo, el 50 % (Pelissolo, 2008). Además, a pesar de sus acciones terapéuticas, los ISRS también están asociadas con una amplia variedad de efectos secundarios, tales como disfunción sexual, cambios de peso, insomnio, somnolencia o sedación, agitación, fatiga, sequedad de boca, trastornos gastrointestinales, y dolor de cabeza (Dording y col., 2002).

25 Los investigadores farmacológicos modernos han descubierto que un compuesto tradicional chino conocida habitualmente como "Gan Mai Da Zao Tang", que contiene dátil chino, granos de trigo y raíz de regaliz (gan Cao) tiene efectos sedantes y soporíferos, combate el miedo, relaja las contracciones del músculo liso y regula el sistema nervioso autónomo. Se descubrió que este compuesto tiene un efecto terapéutico en el tratamiento de pacientes con trastornos de ansiedad (Qin Zhu y col., 2003).

A la luz de las pruebas examinadas anteriormente, la necesidad de un fármaco específico para la ansiedad así como libre de efectos secundarios es evidente.

Sumario de la invención

35 La presente invención se refiere a las realizaciones como se caracterizan en las reivindicaciones y se basa en el hallazgo de que una mezcla de plantas que comprende adaptógenos demostró un efecto ansiolítico en diversos modelos animales de estrés.

40 De acuerdo con ello, en un primero de sus aspectos, la presente invención proporciona composiciones farmacéuticas o nutricionales que comprenden frutos del espino (Shan Zha), grano de trigo ligero (Fu Xiao Mai) y bulbo de azucena (bai hi) para el tratamiento de los trastornos de ansiedad o el estrés tal como se establece en las reivindicaciones.

45 En una realización, la composición de la invención comprende frutos del espino en la cantidad de aproximadamente 33,3 % en peso de la composición, grano de trigo ligero en la cantidad de aproximadamente 33,3 % en peso de la composición, y bulbo de azucena en la cantidad de aproximadamente 33,3 % en peso de la composición. En una realización, la composición de la invención comprende, además, dátil chino (Da zao) tal como se establece en las reivindicaciones.

50 En otra realización, la composición de la invención comprende frutos del espino en la cantidad de aproximadamente 25 % en peso de la composición, grano de trigo ligero en la cantidad de aproximadamente 25 % en peso de la composición, bulbo de azucena en la cantidad de aproximadamente 25 % en peso de la composición y dátil chino en la cantidad de aproximadamente 25 % en peso de la composición.

En otra realización, la composición de la invención comprende frutos del espino en la cantidad de aproximadamente 10% en peso de la composición, grano de trigo ligero en la cantidad de aproximadamente 30% en peso de la composición, bulbo de azucena en la cantidad de aproximadamente 30% en peso de la composición y dátil chino en la cantidad de aproximadamente 30% en peso de la composición.

En una realización, la composición comprende además DMSO.

5 En otra realización, las composiciones se proporcionan a un sujeto en necesidad de las mismas en una cantidad de aproximadamente 1 g/día a aproximadamente 15 g/día. Los sujetos también pueden recibir aproximadamente 6 g/día a aproximadamente 12 g/día, o de aproximadamente 6 g/día a aproximadamente 9 g/día. Las composiciones se pueden proporcionar en una cantidad de aproximadamente 1 g/día, 2 g/día, 3 g/día, 4 g/día, 5 g/día, 6 g/día, 7 g/día, 8 g/día, 9 g/día, 10 g/día, 11 g/día, 12 g/día, 13 g/día, 14 g/día, o 15 g/día. Dicho sujeto puede ser humano.

En ciertas realizaciones, la composición de la invención comprende además ingredientes activos adicionales seleccionados del grupo que consiste en antioxidantes o vitaminas. Las composiciones de la invención pueden ser adecuadas para administración oral o parenteral.

10 Las composiciones de la invención pueden estar en la forma seleccionada del grupo que consiste en un comprimido, una cápsula, un líquido, un pigmento, un jarabe, un polvo, y decocción de plantas sin procesar.

15 Las composiciones de la invención también se pueden encapsular dentro de una microcápsula, de acuerdo con procedimientos bien conocidos en la técnica, por ejemplo en un liposoma o una micela. Las composiciones de la invención pueden causar un aumento del nivel de BDNF en el cerebro de un paciente tratado y/o un aumento del nivel de cortisol en la sangre del paciente tratado.

La medición del nivel de cortisol en la sangre del paciente puede servir como indicador del éxito del tratamiento.

También se describe en el presente documento el uso de fruta de espino, grano de trigo ligero y bulbo de azucena en la preparación de una composición farmacéutica o nutricional para el tratamiento de trastornos de ansiedad o estrés. Dicha composición farmacéutica puede comprender además dátil chino.

20 Breve descripción de los dibujos

Con el fin de entender la invención y de ver cómo se puede llevar a cabo en la práctica, a continuación se describirán realizaciones solo a modo de ejemplo no limitante, con referencia a las figuras adjuntas en las que:

25 La **figura 1** es un gráfico que demuestra el efecto de diferentes tratamientos sobre el comportamiento de tipo ansiedad en ratones BALB. Vehículo - grupo de control negativo a los que se inyecta la solución del vehículo; tratamiento con adaptógenos - grupo de tratamiento (n = 12) tratados con la composición adaptógena de la invención; escitalopram - grupo de control positivo tratado con un fármaco ansiolítico conocido.

30 La **figura 2** es un gráfico que demuestra el efecto del tratamiento (mezcla adaptogénica = 12, escitalopram n = 12, vehículo n= 12) sobre los comportamientos relacionados con la ansiedad en ratones BALB en 3 puntos de tiempo de tratamiento, tras estrés agudo (inyección i.p. de yohimbine de 1,25 mg/kg). Figura 2A: Efecto del tratamiento en la nueva prueba de campo abierto después de una semana de tratamiento. Figura 2B: Efecto del tratamiento en la nueva prueba de campo abierto después de dos semanas de tratamiento. Figura 2C: Efecto del tratamiento en la nueva prueba de campo abierto después de tres semanas de tratamiento - el tiempo pasado en el interior del campo del grupo de control es significativamente menos pronunciado en comparación con el grupo tratado con la mezcla adaptogénica (p <0,05) y con el grupo tratado con escitalopram (p <0,01). Figura 2D: Efecto del tratamiento en el laberinto en cruz elevado después de tres semanas de tratamiento - el tiempo empleado en los brazos abiertos del grupo tratado con la mezcla adaptogénica es significativamente más pronunciado en comparación con el grupo control (p <0,055).

35 La **figura 3** es un gráfico que muestra el efecto de un modelo de ansiedad (sometimiento a separación materna en el periodo posnatal y el estrés crónico leve impredecible en adolescentes) sobre el comportamiento relacionado con la ansiedad. El tiempo pasado en los brazos abiertos fue significativamente más pronunciado en el grupo de control en comparación con los ratones estresados (p <0,001).

La **figura 4** es un gráfico que muestra el tiempo pasado en los brazos abiertos del laberinto en cruz elevado.

La **figura 5** es un gráfico que muestra los niveles de corticosterona después de estrés agudo moderado.

45 La **figura 6A** es una que demuestra el efecto del tratamiento gráfico en el laberinto en cruz elevado - el tiempo empleado en los brazos abiertos por el grupo tratado con la mezcla adaptogénica (30 mg/kg) es significativamente más pronunciado en comparación con el grupo de control (p <0,05), el mismo efecto se observó en el grupo tratado con escitalopram (p <0,05).

50 La **figura 6B** es un gráfico que demuestra los niveles de corticosterona después de estrés agudo moderado: El grupo tratado con la mezcla adaptogénica tenía niveles de corticosterona significativamente menores en comparación con el grupo control (p <0,01 para 30 mg/kg y p <0,05 para 15 mg/kg), el mismo efecto se observó en el grupo tratado con escitalopram (p <0,01).

Descripción detallada de realizaciones

La presente invención se basa en el uso de una nueva combinación de adaptógenos en el tratamiento de trastornos de ansiedad.

55 Tal como se utiliza en el presente documento, el término "**adaptógenos**" se refiere a agentes farmacéuticos derivados de plantas que aumentan la capacidad de un organismo para adaptarse a factores ambientales de estrés y cambiantes (Panossian y col., 1999), al tiempo que producen efectos secundarios nulos o insignificantes.

- En estudios fitoquímicos y de comportamiento se demuestra el potencial terapéutico de tratamiento crónico con adaptógenos en diversos trastornos (Davydov y Krikorian, 2000; ESCOP Monographs, 2003a, b). La ventaja de los adaptógenos está en que ofrecen una fuente natural para diversas sustancias clínicamente activas, lo que es relativamente seguro de acuerdo con la práctica de la medicina complementaria. La acción farmacológica de estos fármacos normalmente no genera efectos secundarios, en contraste a los estimulantes tradicionales. Los adaptógenos de la fuente de plantas no presentan tales efectos negativos: estos compuestos actúan sobre el sistema nervioso por mecanismos que difieren de los de los estimulantes tradicionales. Se utiliza comúnmente en la fitomedicina china tradicional. La fuente de plantas de los adaptógenos es, por lo general, plantas y frutos comestibles.
- Por tanto, la presente invención se refiere a composiciones a base de plantas para el tratamiento y/o prevención de trastornos de ansiedad o estrés.
- Las composiciones a base de plantas de la invención también se conocen como las "**composiciones adaptogénicas**" de la invención.
- El término "**tratamiento**" se utiliza de forma convencional y hace referencia a la administración o el cuidado de un sujeto con el fin de combatir, paliar, reducir, aliviar o mejorar el estado de ansiedad de un sujeto, el estrés o cualquier síntoma de la misma. El término abarca cualquier reducción del estado de ansiedad del sujeto o el estrés como se pone de manifiesto, por ejemplo, en el informe personal de un sujeto, por cuestionarios adecuados o mediante la medición de indicadores fisiológicos de la ansiedad, por ejemplo los niveles de cortisol en la sangre, por lo que los niveles de cortisol elevados son indicativos de estrés.
- Tal como se utiliza en el presente documento, la expresión "**trastornos de ansiedad**" se refiere a diferentes formas de miedo y ansiedad anormal y patológica. El término abarca los trastornos de ansiedad caracterizados por síntomas continuos o episódicos, incluyendo ansiedad generalizada, fobia y trastornos de pánico. Los trastornos de ansiedad se caracterizan por aprehensión mental y diversos síntomas físicos, tales como la tensión física.
- La nueva composición a base de plantas de la invención tal como se establece en las reivindicaciones comprende al menos tres componentes: frutos de espino, grano de trigo ligero y bulbo de azucena.
- La composición puede comprender además dátil chino. La composición de la invención es una composición farmacéutica o composición nutricional que comprende frutos de espino, grano de trigo ligero, bulbo de azucena, como se establece en las reivindicaciones.
- La composición farmacéutica puede comprender además dátil chino, como se establece en las reivindicaciones. Tal como se utiliza en el presente documento, la expresión "**composición farmacéutica**" se refiere a la composición a base de plantas de la invención en la que dicha composición a base de plantas se proporciona como medicamento. Tal como se utiliza en el presente documento, la expresión "**composición nutricional**" se refiere a la composición a base de plantas de la invención en la que dicha composición a base de plantas se proporciona como aditivo de nutrición.
- El fruto del espino (también denominado *Crataegus pinnatifida* o Shan Zha) contiene altos niveles de ácidos triterpénicos y los flavonoides hiperósido e isoquercitrina (Cui y col., 2006a), los componentes activos que determinan sus efectos fisiológicos. Tanto los flavonoides como los triterpenos pertenecen a los dos grupos principales de elementos activos de los adaptógenos. Se descubrió que el tratamiento crónico de las ratas con hiperósido e isoquercitrina regulaba por disminución la función del eje HPA, reduciendo de manera significativa los niveles circulantes de ACTH y corticosterona (Butterweck y col., 2004). También se encontró que el hiperósido reducía la sensibilidad del receptor β 2-adrenérgico en cultivos gliales de rata (Prenner y col., 2007), similar al antidepresivo desipramina. En informes se ha demostrado que los extractos de espino poseen efectos vasorelajación anti-estrés dependiente del endotelio (Chen y col., 1998) y acción inhibitoria de la endotelina-1 (un vasoconstrictor) (Corder y col., 2004) debido a los altos niveles de procianidina.
- Se encontró que los extractos ácidos acuosos de grano de trigo (también denominado *Triticum aestivum* o Fu Xiao Mai) contenían una serie de compuestos que pertenecen a las clásicas 5-fenil-1,4-benzodiazepinonas, que muestran una afinidad alta por el receptor central de benzodiazepina en el cerebro (Wildmann y col., 1988). Se demostró que uno de los compuestos era idéntico al diazepam, que participa en los efectos ansiolíticos y relajantes musculares actuando sobre los receptores GABAérgicos (Chouinard, 2004). Los estudios en animales apoyan un efecto hipnótico en ratas que se trataron con una fórmula a base de plantas que contiene *Triticum aestivum*, *glycyrrhizae Radix* y *Ziziphus Fructus*.
- El bulbo de azucena (también denominado *Lilium brownii* o Bai he) es un adaptógeno que exhibe alta actividad inhibitoria y selectividad hacia la monoamino oxidasa -B (MAO), que cataliza la desaminación oxidativa de las monoaminas biogénicas, en homogeneizados de cerebro de rata (Lin y col., 2003). La inhibición de la MAO-B eleva los niveles de monoaminas, que es la base para la acción de los tratamientos antidepresivos y ansiolíticos en la clínica, tales como los inhibidores de la MAO y los ISRS (Sheehan y Sheehan, 2007). Además, los inhibidores selectivos de la MAO-B, a diferencia de los IMAO no selectivos, no causan la acumulación de tiramina y, por lo tanto, no inducen la peligrosa crisis hipertensora (también conocida como el "efecto queso") (Sheehan y Sheehan, 2007).

Los estudios demuestran que la azucena ejerce funciones inmunomoduladoras y puede suprimir las respuestas inmunitarias hiperreactivas (Ko y Leung, 2007). También posee propiedades antioxidantes.

5 Fructus Zizyphi Jujubae (también denominado Da Zao o dátil chino) se ha utilizado en la medicina tradicional para tratar el insomnio y la ansiedad. En estudios farmacológicos modernos, se ha demostrado que Zizyphi Jujuba posee efectos hipnótico-sedantes, hipertensores, anti-hipoxia e hipotérmicos. En estudios en modelos animales de ansiedad se demuestra que Zizyphi Jujubea posee un efecto ansiolítico a dosis más bajas y un efecto sedante a dosis más altas (Peng et al. 2000).

10 El uso de tres o más de las plantas descritas anteriormente según se proporciona en la composición de la invención da como resultado un efecto sinérgico de la composición que es significativamente más eficaz en el tratamiento de la ansiedad y el estrés que el conseguido mediante el uso de cada una de estas plantas como un agente único.

15 Se puede usar cualquier parte eficaz de las plantas de acuerdo con la presente invención, incluyendo semillas, hojas, tallos, flores, raíces, fruta, corteza, o cualquier otra parte de plantas que son útiles para los fines descritos. Las plantas pueden estar en cualquier forma que sea eficaz, incluyendo, pero sin limitaciones, polvos secos, tierras, emulsiones, extractos, y otras composiciones convencionales. Para extraer o concentrar los ingredientes eficaces de una planta, por lo general la parte de la planta se pone en contacto con un disolvente adecuado, tal como agua o alcohol, o una mezcla de varios disolventes. La elección del disolvente puede realizarse de forma rutinaria, por ejemplo, sobre la base de las propiedades del ingrediente activo que se va a extraer o concentrar mediante el disolvente.

20 La composición se puede disolver en una solución de sal (por ejemplo, solución salina) + DMSO (dimetilsulfóxido), preferentemente en DMSO al 1 %.

El espino se puede utilizar en forma de un extracto del fruto.

El grano de trigo se puede usar en forma de un extracto ácido acuoso de los granos. El bulbo de azucena se puede usar en forma de un extracto.

Zizyphi Jujubae se puede utilizar en forma de un extracto del fruto.

25 En una realización específica, la composición comprende proporciones iguales de los diversos adaptógenos.

Una composición de la invención puede comprender los siguientes ingredientes en peso:

- (a) el fruto del espino en la cantidad de aproximadamente 33,3 % en peso de la composición,
- (b) el grano de trigo ligero en la cantidad de aproximadamente 33,3 % en peso de la composición, y
- (c) el bulbo de azucena en cantidad de aproximadamente 33,3 % en peso de la composición,

30 En otra realización, la composición de la invención puede comprender:

- (a) el fruto del espino en la cantidad de aproximadamente 25% en peso de la composición,
- (b) el grano de trigo ligero en la cantidad de aproximadamente 25% en peso de la composición,
- (c) el bulbo de azucena en cantidad de aproximadamente 25% en peso de la composición, y
- (d) el dátil chino en cantidad de aproximadamente 25 % en peso de la composición.

35 En otra realización, la composición de la invención puede comprender:

- (a) el fruto del espino en la cantidad de aproximadamente 10% en peso de la composición,
- (b) el grano de trigo ligero en la cantidad de aproximadamente 30% en peso de la composición,
- (c) el bulbo de azucena en cantidad de aproximadamente 30% en peso de la composición, y
- (d) el dátil chino en cantidad de aproximadamente 30% en peso de la composición.

40 En ciertas realizaciones, la composición de la invención puede comprender además agentes activos adicionales tales como antioxidantes (por ejemplo, selenio), vitaminas (tales como vitamina A, B1, B2, tiamina, B6, piridoxina, complejo B, biotina, ácido nicotínico, B12, C, ácido ascórbico, D, D2, D3, E, riboflavina, K, K1 o K2), coenzima Q10, NADH, NAD, D-ribosa, o aminoácidos tales como L-glutamina o lisina.

45 Las composiciones pueden comprender además ingredientes inertes y portadores, estabilizantes y agentes tensioactivos, incluyendo, pero sin limitaciones, agua, soluciones salinas, alcoholes, aceites, gelatina, parafina, hidratos de carbono tales como lactosa, amilasa o almidón, y ácidos grasos. Otros aditivos que se pueden incluir en la composición son agentes conservantes, colorantes y aromatizantes, agentes emulsionantes y de suspensión, tales como goma arábiga, agar, alginato de sodio, celulosa, metilcelulosa, colesterol, y derivados de los mismos, disolventes, celulosa microcristalina, ácido cítrico, dextrina suspensión, dextrosa, glucosa, ácido láctico, lactosa, cloruro de magnesio y similares.

50 La composición de la invención se puede administrar sola o en combinación con otro u otros agentes activos. Las composiciones de la presente invención pueden combinarse con otros tratamientos, incluyendo terapia conductual, restricciones de la dieta e intervención farmacológica. En la técnica se conocen varios fármacos para el tratamiento

de trastornos de ansiedad o estrés y estos se pueden combinar con las composiciones de la presente invención.

La presente memoria descriptiva proporciona además un uso en el tratamiento de trastornos de ansiedad o estrés, que comprende administrar a un paciente en necesidad del mismo una cantidad eficaz de la composición de la invención.

- 5 Las cantidades de los ingredientes en la composición son eficaces en el alivio de la ansiedad o el estrés. Una "cantidad eficaz" indica que la masa de ingredientes en la composición es útil para lograr el propósito para el que se administra. Las cantidades se seleccionan en base a varios factores, incluyendo la edad, la salud general, el sexo, el peso o la gravedad de la afección de un paciente que se va a tratar.

- 10 Con el término "**administrada**", se quiere decir que la composición se administra a un sujeto por cualquier medio o vía que es eficaz para lograr el resultado deseado, incluyendo, por ejemplo, oral, parenteral, enteral, intraperitoneal, tópica, transdérmica (por ejemplo, usando cualquier parche estándar), subcutánea, intravenosa, intraarterial, intramuscular, bucal, sublingual, oftálmica, nasal, por aerosol, por inhalación, rectal, vaginal e intratecal.

- 15 La composición de la invención puede administrarse a sujetos humanos en una cantidad de aproximadamente 5 a aproximadamente 15 gramos al día. La composición de la invención puede administrarse a sujetos humanos en una cantidad de aproximadamente 6 a aproximadamente 12 gramos al día. La composición de la invención puede administrarse a sujetos humanos en una cantidad de aproximadamente 6 a aproximadamente 9 gramos al día. Las composiciones pueden administrarse 1, 2, 3, 4, 5, o 6, etc. veces al día, dependiendo del estado físico del sujeto, la gravedad de la enfermedad, etc. Las composiciones se pueden administrar en cualquier momento adecuado, por ejemplo antes o después de una comida, antes de la actividad, antes de dormir y a diferentes horas del día, por ejemplo, por la mañana, por la tarde, etc.

La composición de la invención puede formularse de un modo adecuado para la administración oral o parenteral de acuerdo con técnicas y excipientes convencionales, como se describe, por ejemplo, en "Remington's Pharmaceutical Science Handbook", 17ª Ed Mack Pub.N.Y., EE.UU. La administración parenteral incluye inyección intraperitoneal (i.p.), subcutánea (s.c.), intravenosa (i.v.) e intramuscular (i.m.).

- 25 Los siguientes son ejemplos de formulaciones de administración: líquidos y suspensiones, extractos, formas inyectables, aerosoles, inhaladores, gel, emulsiones, comprimidos, cápsulas, píldoras, supositorios, parches transdérmicos, granulados y polvos. Las composiciones también pueden incluirse en alimentos o bebidas (por ejemplo, té). Las formulaciones de liberación modificada y/o gastroprotegidas son adecuadas para administración oral, especialmente comprimidos de liberación modificada que liberan los ingredientes activos de manera prolongada y sostenida, por ejemplo, varias horas (por ejemplo, 5-8) después de la administración. Tales comprimidos de liberación prolongada se pueden obtener mediante la incorporación de polímeros o copolímeros usados habitualmente para este propósito, tales como copolímeros acrílicos o derivados de celulosa.

La composición descrita en el presente documento se puede usar como tratamiento crónico de los trastornos de ansiedad o como tratamiento preventivo para individuos expuestos a condiciones de estrés mental o físico.

- 35 En estudios en modelos animales de ansiedad se muestra que la composición de la invención proporciona un efecto ansiolítico.

Los ejemplos siguientes ilustran la invención con mayor detalle.

Ejemplo 1: Medición del comportamiento relacionado con la ansiedad en roedores - el laberinto en cruz elevado (LCE)

- 40 Una medición conocida del comportamiento relacionado con la ansiedad en roedores es el laberinto en cruz elevado (LCE). La situación de la prueba consiste en un aparato de forma de cruz con dos brazos abiertos y dos brazos cerrados, cada uno con un techo abierto, elevado 40-70 cm del suelo. El modelo se basa en la aversión a los espacios abiertos de los roedores. Esta aversión conduce al comportamiento denominado thigmotaxis, que consiste en la evitación de áreas abiertas mediante el confinamiento de los movimientos a espacios cerrados o a los bordes de un espacio limitado. En el LCE, esto se traduce en una restricción del movimiento a los brazos cerrados. La reducción de la ansiedad en el laberinto en cruz se indica por un aumento en el tiempo pasado en los brazos abiertos.

- 50 Se trataron los ratones BALB (una cepa que se sabe que exhibe un comportamiento de tipo ansiedad) con la composición adaptogénica de la invención (es decir, una mezcla de fruto del espino, grano de trigo, bulbo de azucena y Zizyphi Jujubae en proporciones iguales) (10 mg/kg/día), con el tratamiento convencional (escitalopram) o con el vehículo (solución salina + DMSO al 1 %) durante 14 días mediante inyección i.p. El efecto ansiolítico se evaluó mediante el laberinto elevado en cruz. Los resultados demuestran un efecto ansiolítico del nuevo tratamiento; el tiempo empleado en los brazos cerrados del grupo de control fue significativamente ($p < 0,05$) más pronunciado en comparación con el grupo tratado con la mezcla adaptogénica ($n = 12$) (véase la figura 1).

- 55 Ejemplo 2: Medición del comportamiento relacionado con la ansiedad después de estrés episódico agudo

Otro estudio realizado en ratones BALB tenía como objetivo examinar el efecto ansiolítico después de estrés episódico agudo durante el tratamiento y después de 3 semanas de tratamiento. Se trató a los ratones mediante inyección i.p. con la mezcla adaptogénica (15 mg/kg/día), escitalopram (15 mg/kg/día) o vehículo. El estrés agudo se obtuvo con inyección i.p. de Yohimibine, un fármaco conocido porque activa una reacción de estrés Vasa y col., (2009). Los resultados demuestran un efecto ansiolítico del tratamiento adaptogénico en el laberinto en cruz elevado y en la prueba nueva en campo abierto (véase la figura 2).

La nueva prueba en campo abierto es otra prueba bien establecida de comportamiento relacionado con la ansiedad en roedores. La zona de campo abierto consiste generalmente en un espacio cuadrado vacío y luminoso, rodeado de paredes para evitar que el roedor se escape. El roedor se coloca generalmente en el centro de la arena y su comportamiento se registra durante un periodo elegido. La tarea en campo abierto nuevo se acerca al conflicto entre el miedo innato que tienen los roedores de la zona central de campo abierto nuevo brillantemente iluminado contra su deseo de explorar nuevos entornos. Cuando están ansiosos, la tendencia natural de los roedores es preferir permanecer cerca de las paredes. En este contexto, el comportamiento relacionado con la ansiedad se mide por el grado en que el roedor evita el centro de la arena.

Ejemplo 3: Evaluación de las respuestas al estrés después de un estrés crónico

Animales

Ratones no consanguíneos ICR, adquiridos en "Harlan, Israel", se criaron y mantuvieron en una casa de animales aprobada en el vivero del "Tel-Aviv Academic collage". Se alojó a los animales en jaulas estándar de laboratorio (jaulas de policarbonato transparente, Makrolon de tipo III, 37,5 x 22 x 5 cm) en un animalario (T, 22 ± 2 °C; humedad relativa, ± 60 %). Los suelos de las jaulas se cubrieron con una gruesa capa de 2-3 cm de virutas de madera. Todos los procedimientos se llevaron a cabo de acuerdo con protocolos aprobados institucionalmente por el Consejo Israelí para la experimentación con animales (ICEAS) los protocolos aprobados institucionalmente. Se proporcionó a los ratones acceso libre a comida y agua amarga y se mantuvieron en un ciclo de 12 h de luz/oscuridad (luces apagadas a las 7 de la mañana). Todos los experimentos fueron aprobados por el Comité Internacional para el cuidado y uso de animales en Israel (MTA-0001-4-07-10).

Separación de la madre (SM)

En el día del parto, DPN 0 (día posnatal), se asignó a las camadas aleatoriamente a SM o a controles creados en una instalación estándar (CIE). Se dejó a los animales CIE en reposo durante toda la manipulación del estrés (tanto separación materna como manipulación de estrés leve crónico impredecible), excepto por el mantenimiento rutinario en la jaula realizado una vez a la semana. El procedimiento de SM se llevó a cabo una vez al día a partir del DPN 1-14. El procedimiento de SM se llevó a cabo mediante la retirada de los cachorros de la jaula de alojamiento y colocándolos juntos en una jaula limpia separada colocada sobre una alfombra de calentamiento 30-33 °C) con el fin de mantener a los cachorros a una temperatura cercana a la temperatura corporal natural de la madre. 6 horas más tarde, se devolvieron las crías a sus jaulas. A la edad de 21 días, se destetó y sexó todos los cachorros, mientras que se separó a los ratones macho en jaulas de cinco ratones por jaula.

Estrés leve crónico impredecible (ELCI)

El procedimiento de estrés crónico se realizó en el grupo de SM durante la adolescencia, desde la edad de 4 y 7 semanas. Se sometió a todos los ratones varias veces al día durante 3 semanas a uno de los siguientes factores de estrés, tales como natación forzada en agua, colocación en una jaula vacía con agua en la parte inferior, inducción de estrés social mediante la limpieza de jaulas sucias del grupo separado de ratones, inversión del ciclo luz/oscuridad, luces encendidas durante un corto periodo de tiempo durante la fase oscura, así como inmovilización. Para evitar la habituación y proporcionar una característica impredecible a los factores de estrés, todos los factores estresantes se administraron en diferentes momentos del día (véase la **tabla 1**).

Tabla 1: Administración de factores de estrés:

	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7
Semana 1	Sucesión de cuatro ciclos de luz/oscuridad cada 30 minutos Estrés social (4 horas)	Colocación en una jaula vacía en el fondo + luces encendidas (4 horas)	Sucesión de cuatro ciclos de luz/oscuridad cada 30 minutos Estrés social (4 horas)	Estrés por inmovilización (4 horas)	Colocación en una jaula vacía en el fondo + luces encendidas (4 horas)	Estrés por inmovilización (4 horas)	Inversión del ciclo de luz/oscuridad

(continuación)

	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7
Semana 2	Colocación en una jaula vacía en el fondo + luces encendidas (4 horas)	Estrés por inmovilización (4 horas)	Sucesión de cuatro ciclos de luz/oscuridad cada 30 minutos Estrés social (4 horas)	Estrés por inmovilización (4 horas)	Colocación en una jaula vacía en el fondo + luces encendidas (4 horas)	Estrés por inmovilización (4 horas)	Inversión del ciclo de luz/oscuridad
Semana 3	Colocación en una jaula vacía en el fondo + luces encendidas (4 horas)	Estrés por inmovilización (4 horas)	Sucesión de cuatro ciclos de luz/oscuridad cada 30 minutos Estrés social (4 horas)	Colocación en una jaula vacía en el fondo + luces encendidas (4 horas)	Estrés por inmovilización (4 horas)	Colocación en una jaula vacía en el fondo + luces encendidas (4 horas)	Inversión del ciclo de luz/oscuridad

El fenotipo conductual: Evaluación de las respuestas de estrés

5 **Ensayo del laberinto en cruz elevado:** Cada ratón se colocó en el centro del laberinto en cruz elevado y su comportamiento se grabó durante la duración de 5 minutos.

Tratamiento de los grupos experimentales y de control

10 Los ratones “estresados” se asignaron aleatoriamente a 4 grupos de tratamiento: 2 grupos que recibieron diferentes dosis de la mezcla de adaptogénica (15, 30 mg/kg), un grupo de control positivo, tratado con un fármaco ansiolítico convencional - escitalopram (15 mg/kg) y un grupo de control que recibió solo el vehículo. La administración de fármacos se realizó mediante inyección i.p. fármaco o vehículo relevante durante 21 días.

Fármacos

15 **Mezcla adaptogénica:** Como se ha mencionado antes, la mezcla adaptogénica estaba hecha de estos cuatro componentes: Crataegus pinnatifida, Triticum aestivum, Liliun brownii y Fructus Zizyphi Jujubae. Las mismas proporciones de los extractos en polvo concentrados de cada uno de los componentes, procesados como gránulos secados por congelación, se disolvieron en solución salina y DMSO al 1 %.

Tratamiento convencional: El tratamiento convencional que se utilizó es escitalopram, un potente y bien tolerado ISRS con efectos de tipo ansiolítico. Se sabe que una dosis de 15 mg/kg/día mediante inyección intraperitoneal (i.p.) tiene un efecto ansiolítico sobre los ratones CIE. El polvo concentrado de escitalopram se disolvió en solución salina y DMSO al 1 %.

20 **El fenotipo conductual: Evaluación de las respuestas al estrés después del tratamiento**

Después de 3 semanas de tratamiento, se probaron todos los grupos tratados para determinar un comportamiento similar a la ansiedad usando el laberinto en cruz elevado con el fin de evaluar la eficacia del tratamiento en el fenotipo conductual.

El fenotipo biológico: Marcadores de la actividad del sistema de estrés después del tratamiento

25 Con el fin de estimar la reacción de la endocrinología al estrés agudo, se colocaron los ratones primero con inmovilización. El estrés por inmovilización es un factor de estrés bien documentado que inicia un aumento transitorio agudo del ACTH y la corticosterona en plasma, por lo general con un máximo durante el transcurso de una exposición al estrés de 60 minutos. Por lo tanto, después de 60 minutos de sometimiento a estrés por inmovilización, las muestras de sangre se recogieron en tubos revestidos de EDTA de la vena facial. Todas las
30 muestras de sangre se mantuvieron en hielo y después se centrifugaron durante 10 minutos a 10.000 rpm a 4 °C. El plasma se transfirió a tubos de microcentrífuga limpios y marcados de 1,5 ml. Todas las muestras de plasma se almacenaron congeladas a -20 °C hasta la determinación de corticosterona mediante RIA.

Diseño experimental

35 En el día del parto (DPN 0) se asignó a las camadas aleatoriamente a manipulaciones de estrés (n=80) o a controles creados en una instalación estándar (CIE) (n=15). El grupo “estresado” se asignó a someterse al paradigma de la separación materna durante 14 días, mientras que los CIE se dejaron en reposo. A la edad de 21 días, se destetó y sexó todos los cachorros y se separó a los ratones macho en jaulas de cinco ratones por jaula. Entre los 28 y 56 días de edad (adolescencia), se sometió a los ratones “estresados” al paradigma estrés leve crónico imprevisible, como se ha descrito anteriormente, mientras que los CIE se dejaron en reposo.

40 Después de las manipulaciones de estrés se evaluó el comportamiento de tipo ansiedad mediante el laberinto

elevado en cruz con el fin de evaluar el efecto de las manipulaciones de estrés. Después, los ratones "estresados" fueron asignados aleatoriamente a diferentes grupos de tratamiento como se ha descrito anteriormente. Después de tres semanas de tratamiento con el fármaco o el vehículo relevante, el comportamiento de tipo ansiedad se evaluó a través del laberinto elevado en cruz. 48 horas después, y mientras que los ratones todavía estaban recibiendo tratamiento, se recogieron muestras de sangre tras el estrés agudo y los niveles de corticosterona se midieron mediante radioinmunoensayo (RIA).

El fenotipo conductual: Evaluación de las respuestas de estrés

Se evaluaron las alteraciones conductuales tras el estrés crónico mediante laberinto en cruz elevado (figura 3); los animales de control pasaron más tiempo en los brazos abiertos en comparación con los animales del grupo de estrés crónico ($p < 0,001$, prueba t).

El fenotipo conductual: Evaluación de las respuestas al estrés después del tratamiento

Las alteraciones de comportamiento después del tratamiento crónico con el tratamiento adaptogénico se evaluaron a través del laberinto en cruz elevado (figura 4); los grupos tratados (mezcla adaptogénica de 30 mg/kg y escitalopram) pasaron significativamente más tiempo en los brazos abiertos en comparación con el grupo de control ($p < 0,05$, prueba t), el mismo efecto que se observó en el grupo tratado con escitalopram.

El fenotipo biológico: Marcadores de la actividad del sistema de estrés después del tratamiento

Los niveles de corticosterona (figura 5) de todos los grupos tratados fueron significativamente menores en comparación con el grupo control ($p < 0,01$ para 30 mg/kg y $p < 0,05$ para 15 mg/kg). El grupo tratado con la mezcla adaptogénica tenía niveles de corticosterona significativamente menores en comparación con el grupo control ($p < 0,01$ para 30 mg/kg y $p < 0,05$ para 15 mg/kg), el mismo efecto se observó en el grupo tratado con escitalopram ($p < 0,01$).

Ejemplo 4: Medición de indicadores hormonales relacionados con la ansiedad

Otro objetivo del estudio fue evaluar el efecto ansiolítico de la mezcla adaptogénica sobre los indicadores hormonales.

El estrés en los seres humanos y diversas especies animales induce la liberación de hormona liberadora de corticotropina (CRH) del hipotálamo. A continuación, la CRH activa las células de la adenohipófisis para liberar hormona adrenocorticotropa (ACTH), que, a su vez, activa la corteza suprarrenal para que secreta hormonas glucocorticoides, tales como cortisol en seres humanos y corticosterona en roedores (McEwen, 1998). Por lo tanto, es posible evaluar la ansiedad a través de la medición de los niveles de corticosterona en suero.

Los ratones CIE fueron sometidos al paradigma de la separación materna durante el periodo posnatal y al paradigma de estrés leve crónico impredecible en la adolescencia. Los comportamientos relacionados con la ansiedad se evaluaron utilizando el laberinto en cruz elevado e indicaron efecto ansiogénico de la manipulación de estrés. Durante la edad adulta, se asignó a los ratones a diferentes grupos de tratamiento: tratamiento adaptogénico (15, 30 mg/kg), escitalopram (15 mg/kg) y un grupo de control, que solo recibió el vehículo. Después de 3 semanas de tratamiento, se realizaron evaluaciones de comportamiento. Además, se obtuvieron muestras de sangre después de estrés agudo (tensión por inmovilización) y se midieron los niveles de corticosterona mediante RIA. Además de la atenuación del comportamiento de tipo ansiedad, cuando se enfrentan a estrés agudo, los ratones tratados con la mezcla adaptogénica exhibieron una reacción hormonal moderada en comparación con el grupo control (véase la figura 6).

Curiosamente, se encontró que los niveles de BDNF (factor neurotrófico derivado del cerebro) en el hipocampo de los ratones de control eran significativamente menores en comparación con los ratones tratados con la composición adaptogénica de la invención.

Ejemplo 5: Efectos del tratamiento durante el estrés

Diseño experimental

El día después del parto, el día posnatal (DPN) 1, se sometió a las camadas a un procedimiento de separación materna (SM) que se llevó a cabo una vez al día a partir del DPN1-14. A la edad de 21 días, se destetó y se sexó a todos los cachorros. 90 ratones macho fueron marcados, pesados y separados en jaulas de hasta cinco ratones por jaula, fueron asignados al azar a cuatro grupos de tratamiento como se ha descrito anteriormente. Entre las edades de 28 y 56 días (adolescencia), los ratones fueron sometidos al paradigma de estrés leve impredecible. En este experimento se utilizaron tres factores de estrés diferentes, todos los ratones fueron sometidos una vez al día a uno de los siguientes factores de estrés: inmovilizadores; colocación en una jaula vacía con agua en la parte inferior; o inversión del ciclo luz/oscuridad. Para evitar la habituación y para proporcionar una característica impredecible a los factores de estrés, cada día se administró un factor de estrés diferente durante cuatro horas, en diferentes puntos de tiempo del día. Durante todo el paradigma del estrés, los medicamentos se administraron mediante inyección i.p. del tratamiento relevante, durante 28 días. Al llegar a la edad adulta y después de cuatro semanas de tratamiento, se

midieron el comportamiento, las hormonas periféricas y las monoaminas cerebrales con el fin de evaluar los efectos del nuevo tratamiento.

Pruebas de comportamiento

5 Después de cuatro semanas de tratamiento, se probaron todos los grupos tratados para determinar un comportamiento similar a la ansiedad usando el laberinto en cruz elevado y una versión diferente de la prueba en campo abierto, con el fin de evaluar la eficacia del tratamiento en el fenotipo conductual.

El laberinto en cruz se utilizó en el mismo formato que se ha descrito anteriormente.

10 Además de la prueba de comportamiento, y antes de ella, todos los grupos tratados se sometieron a la prueba de sacarosa. Los animales se separaron en jaulas individuales, un ratón por jaula. En cada jaula, además del agua esterilizada común se colocó otra botella con sacarosa diluida en agua esterilizada. Las dos botellas se dejaron en la jaula durante 12 horas. Las dos botellas y la comida de una jaula particular se pesaron. Después de las 12 horas, se calculó la cantidad de agua corriente, agua con sacarosa y alimentos ingeridos por el ratón. El fundamento de esta prueba está en la preferencia innata de los ratones de los sabores dulce y el conocido síntoma de ansiedad de la anhedonia. Por lo tanto, para los ratones más ansiosos, la expectativa era que beberán menos agua con sacarosa, 15 sin mostrar preferencia por el sabor dulce en comparación con el agua ordinaria, y comerán menos alimentos que los ratones menos ansiosos.

Mediciones fisiológicas

20 Con el fin de estimar la reacción de la endocrinología al estrés agudo, se colocaron los ratones primero con inmovilización. Se sabe que el estrés por inmovilización inicia un aumento transitorio agudo del ACTH y la corticosterona en plasma, por lo general con un máximo durante el transcurso de una exposición al estrés de 60 minutos. Por lo tanto, después de 60 minutos de sometimiento a estrés por inmovilización, las muestras de sangre se recogieron en tubos revestidos de EDTA de la vena facial. Todas las muestras de sangre se mantuvieron en hielo y después se centrifugaron durante 10 minutos a 10.000 rpm a 4 °C. El plasma se transfirió a tubos de microcentrífuga limpios y marcados de 1,5 ml. Todas las muestras de plasma se almacenaron congeladas a -20 °C 25 hasta la determinación de corticosterona mediante RIA.

30 Al final del experimento, se sacrificó a todos los ratones tratados. Los cerebros de los ratones se colocan en un molde en hielo. Las secciones en serie se cortaron en portaobjetos. Se tomaron perforaciones tisulares del hipocampo. Las extracciones se consiguieron mediante sonicación en 0,5 ml de una solución de perclorato de (0,1 M) que contiene EDTA/etanol. El factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) se midió mediante EIA. Se ha demostrado que el estrés y los antidepresivos tienen efectos opuestos sobre la expresión de BDNF en el hipocampo, mientras que el estrés puede conducir a atrofia neuronal y pérdida en varias regiones del cerebro, incluyendo el hipocampo, los antidepresivos pueden ejercer su efecto terapéutico mediante el aumento de la expresión del BDNF, lo que conduce a la inversión de la atrofia neuronal y la pérdida de células.

Análisis estadístico

35 Se realizaron pruebas t pareadas, así como un modelo de una vía ANOVA, entre todos los grupos de prueba para cada una de las variables de comportamiento. Más tarde, se realizaron análisis post hoc utilizando el criterio post hoc de Scheffé de significación.

Resultados

40 En la prueba del laberinto en cruz elevado, el tiempo pasado en los brazos abiertos por los dos grupos tratados con la mezcla adaptogénica a ambas dosis (15 y 30 mg/kg) es significativamente más pronunciado en comparación con el grupo de control (p <0,05), el mismo efecto que se observó en el grupo tratado con escitalopram (p <0,05): 62 segundos en el grupo que recibió 15 mg/kg de adaptógenos, 68 segundos en el grupo que recibió 30 mg/kg de adaptógenos y 64 segundos en el grupo que recibió escitalopram, como en comparación con 44 segundos en el grupo de control que recibió solución salina.

45 En la prueba de sacarosa, el consumo de sacarosa por el grupo tratado con la mezcla adaptogénica (30 mg/kg) es significativamente más pronunciado en comparación con el grupo de control (p <0,05); el mismo efecto que se observó en el grupo tratado con escitalopram (p <0,05): se consumieron 56 ml en el grupo que recibió 30 mg/kg de adaptógenos, y 55 ml en el grupo que recibió escitalopram, en comparación con 51 ml en el grupo de control que recibió solución salina.

50 Niveles de corticosterona tras el estrés agudo por inmovilización: el grupo tratado con la mezcla adaptogénica (30 mg/kg) tuvo niveles de corticosterona significativamente más bajos (79,7 ng/ml) en comparación con el grupo de control (80,9 ng/ml); el mismo efecto se observó en el grupo tratado con escitalopram (77,3 ng/ml) (p <0,05).

55 En las mediciones de los niveles de BDNF, los resultados indican que el grupo de 30 mg/kg de mezcla adaptogénica y el grupo de escitalopram tenían niveles de BDNF significativamente más altos en comparación con el grupo de control: 17 pc/µg para el grupo de 30 mg/kg de mezcla adaptogénica (p<0,01) y 16pc/µg para el grupo tratado con

escitalopram ($p < 0.05$), en comparación con 12 μg para el grupo control (solución salina).

En conclusión, el tratamiento con la composición de la invención, ya sea después o durante el período de estrés alivia significativamente diferentes síntomas de comportamiento y fisiológicos del estrés.

Ejemplo 6: Tratamiento de las afecciones relacionadas con la ansiedad en sujetos humanos

5 Los sujetos humanos (aproximadamente 100) que sufren ansiedad fueron tratados con la composición adaptogénica de la invención (es decir, una mezcla de fruto de espino, grano de trigo, bulbo de azucena y Zizyphi Jujubae en proporciones iguales) en una cantidad que oscila de 6-12 g/día, la mayoría de los sujetos recibió 6-9 g/día, todos los días durante períodos de varios meses (por lo menos 6 meses). La composición se proporciona en forma de polvo para el consumo oral. En ciertos casos, el polvo se encapsuló y se proporciona en la forma de un comprimido. Se notificó un éxito de aproximadamente 65 % en el alivio de la ansiedad.

Ejemplo 7: Efecto ansiolítico de una composición que comprende fruto del espino, grano de trigo y bulbo de azucena

15 Ratonos C57BL/6 machos y hembras lactantes se sometieron a estrés crónico (MSP) mediante separación de la madre durante 6 horas al día desde el día 1 hasta el día 14. El comportamiento de ansiedad se analizó después de diferentes tratamientos ansiolíticos. Los ratones recibieron una inyección i.p. diaria inyección a partir de los 28 días de edad durante dos semanas, de uno de los siguientes medicamentos: Citalopram (10 mg/kg), o la composición adaptogénica de la invención que comprende fruto del espino, grano de trigo y bulbo de azucena (10 mg/kg)). El comportamiento de ansiedad se analizó en la prueba de campo abierto.

20 Los ratones MSP tratados con la composición de la invención pasaron significativamente más tiempo en el interior del centro de la arena (6 segundos) en comparación con el grupo tratado con citalopram (2,5 segundos) y el grupo de control tratado con solución salina (1,8 segundos). $P < 0.05$, $n = 16$.

Además, los ratones MSP tratados con la composición de la invención entraron significativamente más veces al interior de la arena (4,4 veces) en comparación con el grupo tratado con citalopram (2,4 veces) y el grupo de control tratado con solución salina (1,6 veces). $P < 0.05$, $n = 16$.

25 Además, los ratones MSP tratados con la composición de la invención pasaron significativamente más tiempo en el interior del centro de la arena (6 segundos) en comparación con el grupo tratado no estresado (4 segundos). Por otra parte, los ratones MSP tratados con citalopram pasaron significativamente menos tiempo en el interior del centro de la arena (2,5 segundos) en comparación con los ratones no estresados (4,6 segundos). De forma similar, los ratones MSP tratados con solución salina también pasaron significativamente menos tiempo en el interior del centro de la arena (1,8 segundos) en comparación con los ratones no estresados (4,5 segundos).

30 Curiosamente, los ratones MSP tratados con la composición de la invención demuestran menos síntomas de ansiedad que los ratones que no fueron expuestos a estrés crónico en la infancia.

Referencias

1. Barbui C., Cipriani A. (2009). Review: maintenance antidepressants reduce risk of relapse but effect is not as great in recurrent depression, *British Medical Journal*, 12, 79.

35 2. Butterweck V., Hegger M., Winterhoff H. (2004). Flavonoids of St. John's Wort reduce HPA axis function in the rat. *Planta Med*, 70, 1008-1011.

3. Chen Z.Y., Zhang Z.S., Kwan K.Y., Zhu M., Ho W.K., Huang Y. (1998). Endothelium-dependent relaxation induced by hawthorn extract in rat mesenteric artery. *Life Sci*, 63,1983-1991.

40 4. Chouinard G. (2004). Issues in the clinical use of benzodiazepines: potency, withdrawal, and rebound, *J Clin Psychiatry*, 65, 7-12.

5. Corder R., Warburton R.C., Khan N.Q., Brown R.E., Wood E.G., Lees D.M. (2004). The procyanidin-induced pseudo laminar shear stress response: a new concept for the reversal of endothelial dysfunction. *Clin Sci (Lond)*, 107, 513-517.

45 6. Cui T., Nakamura K., Tian S., Kayahara H., Tian Y.L. (2006a). Polyphenolic content and physiological activities of Chinese hawthorn extracts. *Biosci Biotechnol Biochem* 70, 2948-2956.

7. Davydov M, Krikorian AD (2000) *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. & Maxim.) Maxim. (Araliaceae) as an adaptogen: a closer look. *J Ethnopharmacol* 72:345-393.

8. Dording C.M., Mischoulon D., Petersen T.J., Kornblum R., Gordon J., Nierenberg A.A., Rosenbaum J.F., Fava M. (2002). The pharmacologic management of SSRI-induced side effects: a survey of psychiatrists. *Annals of Clinical Psychiatry*, 14, 143-147.

50 9. Ko K.M., Leung H.Y. (2007) Enhancement of ATP generation capacity, antioxidant activity and

immunomodulatory activities by Chinese Yang and Yin tonifying herbs. *Chin Med*, 2, 3.

10. Lin R.D., Hou W.C., Yen K.Y., Lee M.H. (2003). Inhibition of monoamine oxidase B (MAO-B) by Chinese herbal medicines, *Phytomedicine*, 10, 650-656.
11. McEwen B.S. (1998b). Protective and damaging effects of stress mediators. *N Engl J Med*, 338, 171-179.
- 5 12. Panossian A., Gabrielian E., Wagner H. (1999). On the mechanism of action of plant adaptogens with particular reference to cucurbitacin R diglucoside. *Phytomedicine*, 6, 147-155.
13. Pelissolo. A., (2008) Efficacy and tolerability of escitalopram in anxiety disorders: a review. *Ecephale*. 34, 8-400.
- 10 14. Peng, W.H., Hsieh, M.T., Lee, Y.S., Lin, Y.C., Liao, J., 2000. Anxiolytic effect of seed of *Ziziphus jujuba* in mouse models of anxiety. *Journal of Ethnopharmacology*, 72, 435-441.
- 15 15. Prenner L., Sieben A., Zeller K., Weiser D., Haberlein H. (2007). Reduction of high-affinity beta2-adrenergic receptor binding by hyperforin and hyperoside on rat C6 glioblastoma cells measured by fluorescence correlation spectroscopy. *Biochemistry* 46, 5106-5113.
16. Qin Zhu et al. (2003). Observations on the Therapeutic Effects of Treating 68 Cases of Examination Anxiety with Gan Mai Da Zao Tang (Licorice, Wheat & Red Date Decoction) Combined with Daoist Cognitive Therapy. *Xin Zhong Yi (New Chinese Medicine)*, 12, 29-30.
17. Sheehan D.V., Sheehan K.H. (2007). Current approaches to the pharmacologic treatment of anxiety disorders, *Psychopharmacol Bull*, 40, 98-109.
- 20 18. Vasa R.A., Pine D.S, Masten C.L., Vythilingam M., Collin C., Charney D.S. et al. (2009). Effects of yohimbine and hydrocortisone on panic symptoms, autonomic responses, and attention to threat in healthy adults, *Psychopharmacology*, 204, 445-455.
19. Wildmann J., Vetter W., Ranalder U.B., Schmidt K., Maurer R., Mohler H. (1988). Occurrence of pharmacologically active benzodiazepines in trace amounts in wheat and potato. *Biochem Pharmacol*, 37, 3549-3559.
- 25 20. Wong, M. L. & Licinio, J. (2004). From monoamines to genomic targets: a paradigm shift to drug discovery in depression. *Nature Review Drug Discovery*, 3, 136-151.

REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica o nutricional que comprende, como los únicos componentes activos a base de plantas, fruto de espino, grano de trigo ligero y bulbo de azucena, para su uso en el tratamiento de trastornos de ansiedad o estrés.
- 5 2. Una composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la composición comprende fruto de espino en la cantidad de aproximadamente 33,3 % en peso de la composición, grano de trigo ligero en la cantidad de aproximadamente 33,3 % en peso de la composición y bulbo de azucena en la cantidad de aproximadamente 33,3 % en peso de la composición.
- 10 3. Una composición farmacéutica o nutricional que comprende, como los únicos componentes activos a base de plantas, fruto de espino, grano de trigo ligero, bulbo de azucena y dáttil chino, para su uso en el tratamiento de trastornos de ansiedad o estrés.
- 15 4. Una composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 3, en la que la composición comprende fruto de espino en la cantidad de aproximadamente 25 % en peso de la composición, grano de trigo ligero en la cantidad de aproximadamente 25 % en peso de la composición, bulbo de azucena en la cantidad de aproximadamente 25 % en peso de la composición y dáttil chino en la cantidad de aproximadamente 25 % en peso de la composición.
5. Una composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 3, en la que la composición comprende fruto de espino en la cantidad de aproximadamente 10% en peso de la composición, grano de trigo ligero en la cantidad de aproximadamente 30% en peso de la composición, bulbo de azucena en la cantidad de aproximadamente 30% en peso de la composición y dáttil chino en la cantidad de aproximadamente 30% en peso de la composición.
- 20 6. Una composición para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que comprende además DMSO. 2
7. Una composición para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes proporcionada en una cantidad de 1 g/día a 15 g/día.
- 25 8. Una composición para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que comprende además antioxidantes o vitaminas.
9. Una composición para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la forma seleccionada del grupo que consiste en un comprimido, una cápsula, un líquido, un jarabe, un pigmento, un polvo, y decocción de plantas sin procesar.
- 30 10. Una composición para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes que está encapsulada en una microcápsula.
11. Una composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 10, en la que dicha microcápsula es un liposoma o una micela.
- 35 12. Una composición para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que dicha composición produce un aumento del nivel de BDNF en el cerebro de un paciente tratado y/o un aumento del nivel de cortisol en la sangre del paciente tratado.

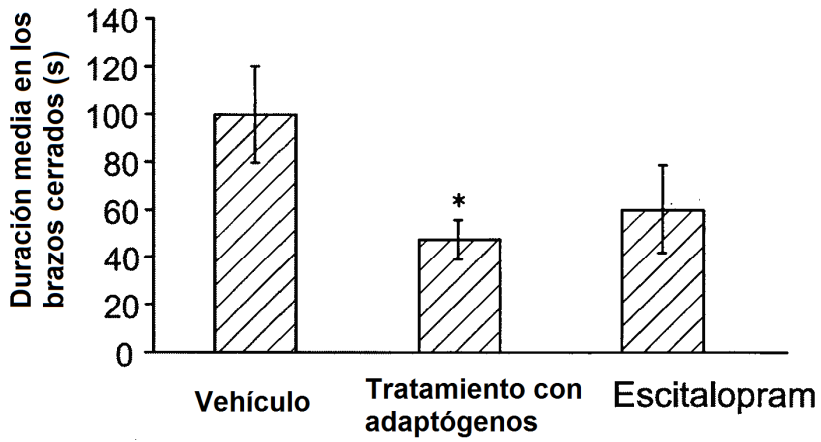


FIG. 1

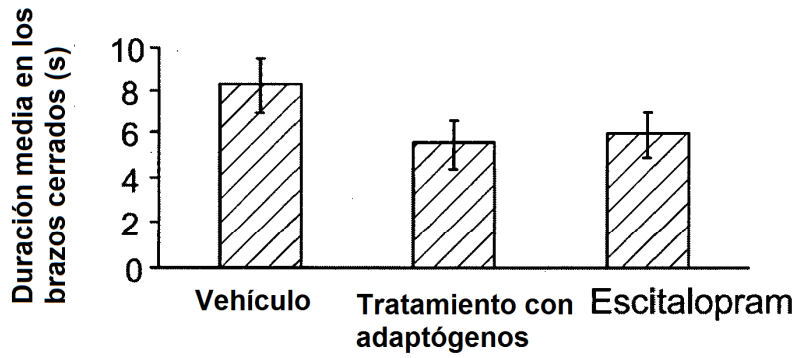


FIG. 2A

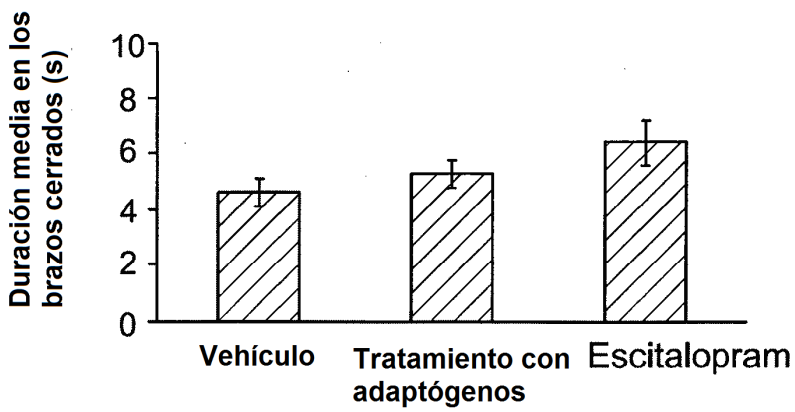


FIG. 2B

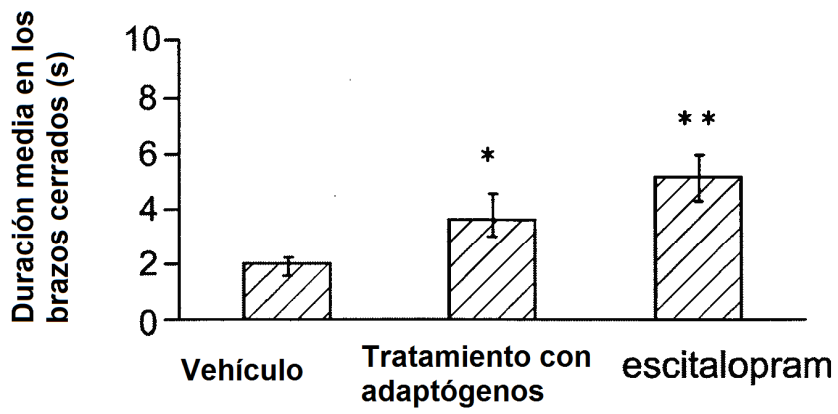


FIG. 2C

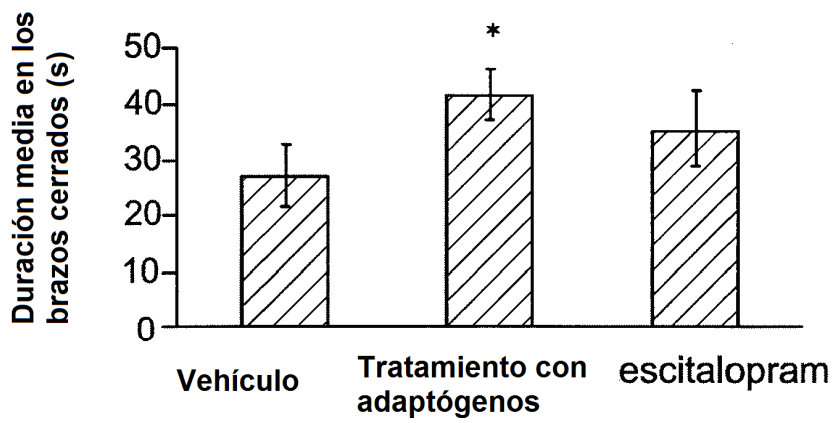


FIG. 2D

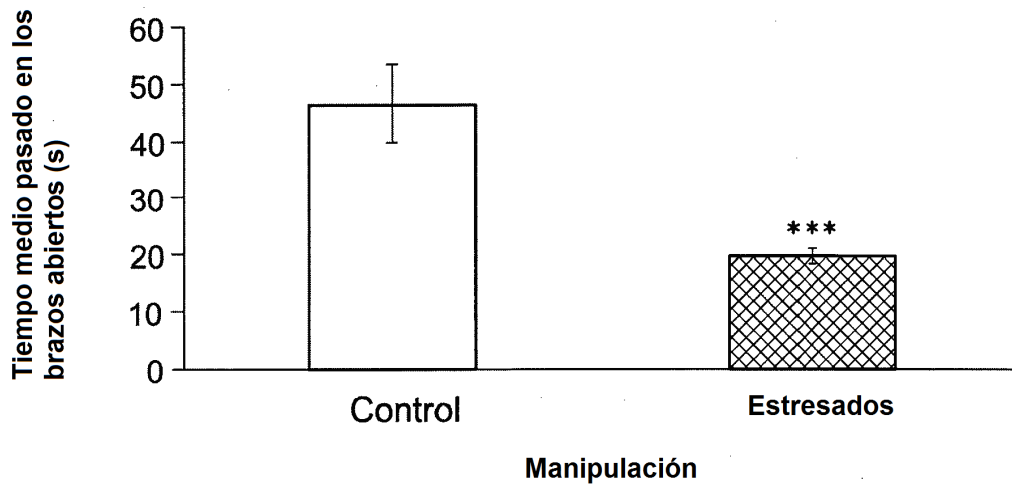


FIG. 3

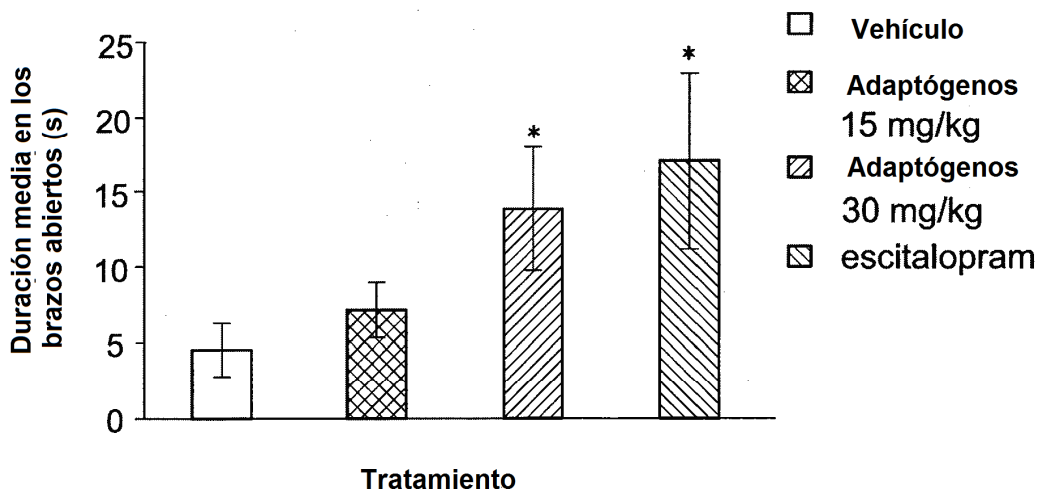


FIG. 4

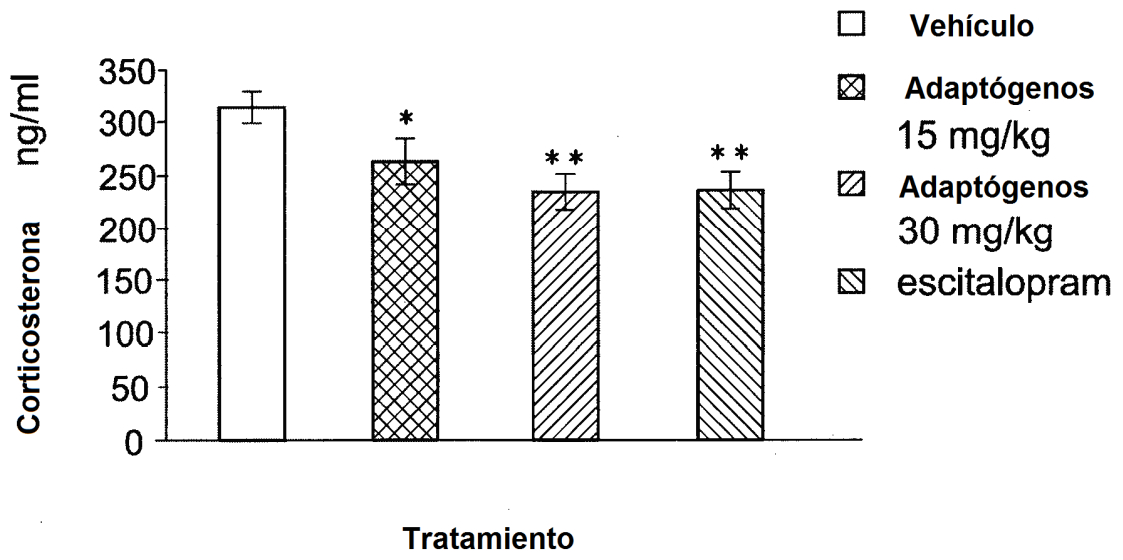


FIG. 5

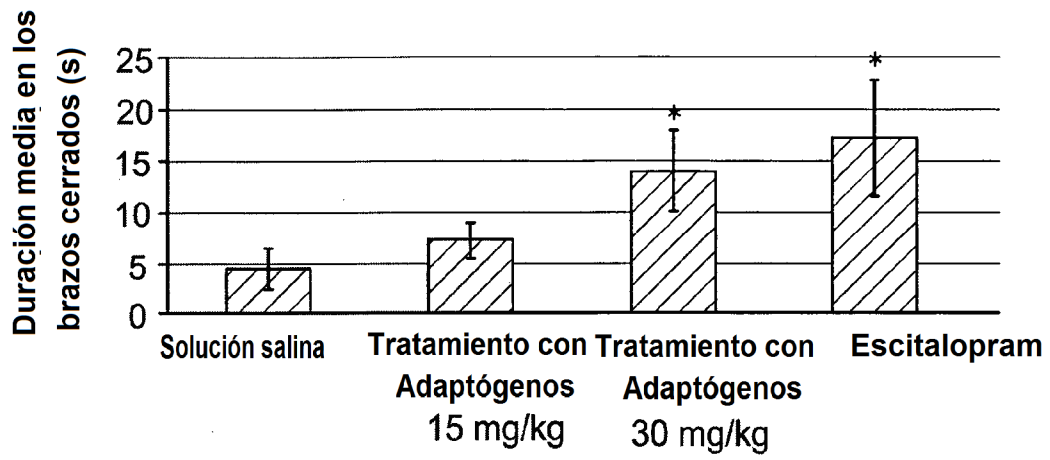


FIG. 6A

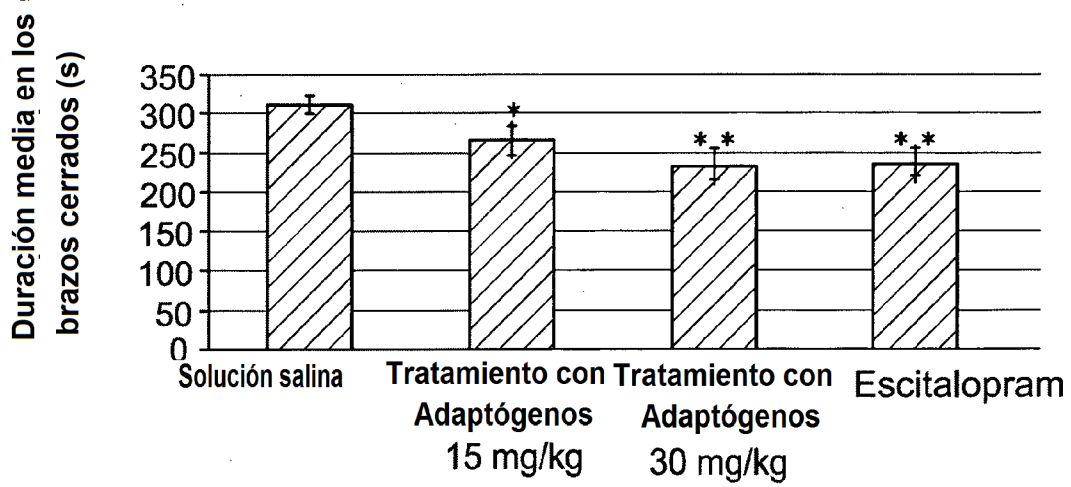


FIG. 6B