

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 633 127**

51 Int. Cl.:

A61K 31/365 (2006.01)

A61K 31/7048 (2006.01)

A61K 36/65 (2006.01)

A61P 25/20 (2006.01)

A61P 25/22 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **09.11.2011** **PCT/CN2011/081984**

87 Fecha y número de publicación internacional: **31.05.2012** **WO12068958**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.11.2011** **E 11842846 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.04.2017** **EP 2644198**

54 Título: **Uso de albiflorina para mejorar el trastorno de la ansiedad y el sueño**

30 Prioridad:

25.11.2010 CN 201010558722

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la
traducción de la patente:
19.09.2017

73 Titular/es:

ZHANG, ZUOGUANG (100.0%)
No. 406, Tower B Jiarun Huayuan No. 19
Guangshun South Street Chaoyang District
Beijing 100102, CN

72 Inventor/es:

ZHANG, ZUOGUANG

74 Agente/Representante:

TEMIÑO CENICEROS, Ignacio

ES 2 633 127 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

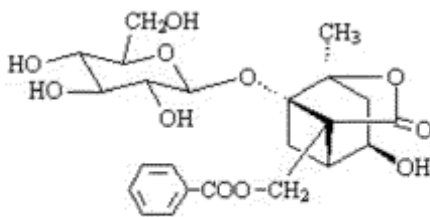
Uso de albiflorina para mejorar el trastorno de la ansiedad y el sueño

Campo de la invención

- 5 La presente invención se refiere a un uso de albiflorina en la preparación de un medicamento o un alimento para el cuidado de la salud para prevenir, mejorar y/o tratar el trastorno de ansiedad y el trastorno del sueño, en el que el medicamento consiste en albiflorina y un portador farmacéuticamente aceptable.

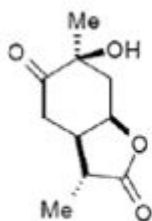
Antecedentes de la invención

- 10 En la sociedad moderna, debido a la creciente competencia y al ritmo acelerado de la vida, cada vez más personas sufren de trastorno de ansiedad y trastorno del sueño. La función de los hipnóticos sedantes actuales y los fármacos antiansiedad (tal como la clase de las benzodiazepinas) se caracteriza por hacer que los insomnes se duerman rápidamente. Aunque el tiempo de sueño ligero puede ser prolongado, dos tipos importantes de sueño, sueño de onda lenta (SWS) y sueño rápido de movimiento ocular (REMS), se dañan en grados variables. De acuerdo con lo anterior, la calidad del sueño no se ha mejorado realmente, y los fenómenos de mareos, fatiga, somnolencia, falta de atención y similares ocurren inevitablemente. La administración repetida puede resultar en dependencia psicológica y física.
- 15 Una nueva generación de hipnóticos sedantes, antiansiedad (tal como la bupiriona) ha hecho mucho progreso en la mejora de la calidad del sueño, y sin adicción evidente. Sin embargo, después de la administración, se pueden producir efectos secundarios de mareos, dolor de cabeza y trastornos gastrointestinales. Por lo tanto, es necesario seguir buscando y desarrollar nuevos medicamentos para el tratamiento del trastorno de ansiedad y el trastorno del sueño.
- 20 La albiflorina es una sustancia activa natural categorizada como monoterpreno, con una fórmula molecular de $C_{23}H_{28}O_{11}$ y un peso molecular de 480.46, y su estructura molecular se muestra en la Fórmula I. Se origina a partir de la raíz de *Paeonia lactiflora* Pall, *Paeonia veitchii* Lynch o *P. suffruticosa* Andrzej de plantas Ranunculaceae.

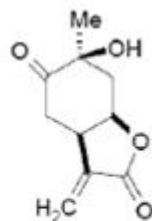


(I)

- 25 La albiflorina tiene una estructura cíclica de lactona, pero sin una estructura hemiacetal. Se convierte en condiciones anaerobias en dos productos, paeonilactona A y paeonilactona B, respectivamente. Las estructuras de paeonilactona A y B se muestran como fórmula (II) y fórmula (III), respectivamente:



Fórmula (II)



Fórmula (III)

- 30 Los estudios farmacológicos modernos indican que la albiflorina tiene efectos analgésicos, anticonvulsivos, efectos relacionados con el sistema inmune, efectos relacionados con el músculo liso, efecto antiinflamatorio, efectos contra microorganismos patógenos y efecto de protección hepática. Clínicamente hablando, se utiliza principalmente para la lucha contra la epilepsia, la analgesia, la rehabilitación del abuso de drogas, detención de las náuseas, el tratamiento de la artritis reumatoide, el tratamiento de la disentería bacilar y la enteritis, el tratamiento de la hepatitis viral, el tratamiento de enfermedades relacionadas con la edad, la resistencia a la floculación del sulfato de bario y a la disolución del moco.

Como se ha indicado en la técnica anterior (Anping, ZHANG et al., Effects of total glucosides of paeony on sleep-waking rhythm in rats, Chinese Pharmacological Bulletin, 1993,9 (6): 454), los glucósidos totales de paeonin son componentes activos extraídos de *Paeonia lactiflora* Pall, incluyendo paeoniflorina, hidroxil paeoniflorina, paeonin, albiflorina, benzóil paeoniflorina y similares, en los que el contenido de paeoniflorina es más del 90% con respecto a los glucósidos totales. Por lo tanto, los efectos farmacológicos de los glucósidos totales de paeony se representan sustancialmente como los de paeoniflorina, y los glucósidos totales de paeony tienen efectos sobre el ritmo de sueño-vigilia en ratas. En otras palabras, sólo se registra en la técnica anterior que los glucósidos totales de paeony tienen efectos sobre el ritmo de sueño-vigilia en ratas, pero no hay ninguna enseñanza de la eficacia de la albiflorina como compuesto monómero para el tratamiento del trastorno de ansiedad y trastorno del sueño. Otras composiciones farmacéuticas que comprenden los glucósidos totales de paeony de *Paeonia radix* se describen, por ejemplo, en las publicaciones de Oh, J.K. et al. (Biol. Pharm. Bulletin, 2007, 30: 1422-1426) y Yasui, T. et al. (Maturitas, 2009, 62: 146-152), así como los documentos de patente CN 101361830 A, US 5,225,203 A, US 2003/232096 A1, US 2006/198872 A1, y CN 1765366 A. Finalmente, el uso de albiflorina para el tratamiento del trastorno del estado de ánimo, a saber, la depresión, se describe en el documento WO 2011/047576 A1.

Mediante tecnología de separación y purificación avanzada, el inventor extrae la albiflorina, el componente activo para el tratamiento del trastorno de ansiedad y del trastorno del sueño, de la raíz de *Paeonia lactiflora* Pall, con una pureza de 50-99%, y el inventor hace estudios farmacodinámicos y farmacológicos de la albiflorina y sus preparaciones farmacéuticas correspondientes sobre la mejora, el tratamiento del trastorno de ansiedad y el trastorno del sueño (especialmente el tratamiento del trastorno del sueño asociado con la depresión). Los resultados mostraron que el monómero de albiflorina tiene claros efectos farmacológicos para tratar el trastorno de ansiedad y el trastorno del sueño, efecto terapéutico significativo, efectos secundarios y toxicidad bajos y alta seguridad. La albiflorina también puede hacer posible proporcionar un medicamento altamente eficaz y poco tóxico para pacientes que sufren de ansiedad y trastorno del sueño. Además, también se realiza la comparación entre paeoniflorina y albiflorina en la mejora del trastorno del sueño. Los resultados experimentales mostraron que la albiflorina es notablemente mejor que la paeoniflorina (que es el principal componente efectivo de los glucósidos totales de paeony para tratar la ansiedad y mejorar el trastorno del sueño) en la mejora del trastorno del sueño. La visión tradicional se corrige debido a estos resultados.

Los alimentos para el cuidado de la salud, también llamados suplementos dietéticos, son un producto oral o preparado que contiene nutrientes, que se toman con el propósito de aumentar el nutriente además de las comidas diarias. No es un fármaco, sino una especie de comida. Sin embargo, también difiere de los de la mesa durante tres comidas al día. El "alimento para el cuidado de la salud" cae en el alcance de alimento, pero difiere de este en el sentido tradicional. Su función es proveer nutrientes además de las comidas diarias, regular las funciones corporales y mejorar la condición física.

Descripción de la invención.

El objeto de la presente invención es proporcionar un uso de albiflorina en la preparación de un medicamento o un alimento para el cuidado de la salud para prevenir, mejorar y/o tratar el trastorno de ansiedad y el trastorno del sueño, en el que el medicamento consiste en albiflorina y un portador farmacéuticamente aceptable.

Como se usa en este documento, el trastorno del sueño es el insomnio, representado principalmente como dificultades persistentes del sueño y el despertar temprano, el trastorno del sueño también incluye el trastorno del sueño asociado con ansiedad y/o depresión.

Usando métodos de la técnica anterior, el medicamento se puede formular como un comprimido, una cápsula, una píldora, un polvo, un gránulo, un jarabe, una solución, una emulsión, una inyección, una pulverización, un aerosol o un parche.

Otro objeto de la presente invención es proporcionar un medicamento para prevenir, mejorar y/o tratar el trastorno de ansiedad y el trastorno del sueño, caracterizado porque el medicamento consiste en albiflorina y un portador farmacéuticamente aceptable.

Otro objeto de la presente invención es proporcionar un alimento para el cuidado de la salud para prevenir, aliviar y/o tratar el trastorno de ansiedad y el trastorno del sueño, caracterizado porque el alimento para el cuidado de la salud consiste en albiflorina y un portador farmacéuticamente aceptable.

Con el fin de conseguir los objetivos anteriores, la presente invención proporciona un uso de albiflorina en la preparación de un medicamento o un alimento para el cuidado de la salud para prevenir, mejorar y/o tratar el trastorno de ansiedad y el trastorno del sueño, especialmente que el trastorno del sueño asociado con depresión, en el que el medicamento o alimento para el cuidado de la salud consiste en albiflorina y un portador farmacéuticamente aceptable. Como se usa en este documento, el trastorno del sueño se refiere al insomnio o al despertar temprano caracterizado por dificultades persistentes del sueño.

Durante la selección de componentes activos naturales usados para tratar el trastorno de ansiedad y el trastorno del sueño, los inventores encontraron que albiflorina, uno de los componentes químicos presentes en el extracto de

paeonin de medicina tradicional china, posee un efecto significativo, y también encontraron que los dos metabolitos del albiflorina en el cuerpo humano, paeonilactona A y paeonilactona B, tienen valor medicinal en el tratamiento y/o la prevención del desorden de ansiedad y del desorden del sueño.

5 El término "albiflorina" se refiere a los racematos, a los estereoisómeros, o a las mezclas de estereoisómeros mezclados en cualquier proporción de albiflorina.

Los dos metabolitos de albiflorina son paeonilactona A y paeonilactona B.

10 Se reconoce generalmente que el portador farmacéuticamente aceptable se utiliza para este propósito y se utiliza como componente inactivo del medicamento. El resumen de portadores farmacéuticamente aceptables se puede encontrar en "Handbook of pharmaceutical excipients" (Handbook of pharmaceutical excipients, 2nd edition, edited by A. Wade and P. J. Weller; published by the American Pharmaceutical Association, Washington and The Pharmaceutical Press, London, 1994) y otros libros de referencia.

15 Especialmente, el portador incluye un excipiente tal como almidón, agua y similares; un lubricante tal como estearato de magnesio, y similares; un desintegrante tal como celulosa microcristalina, y similares; un agente de carga tal como lactosa, y similares; un aglutinante, tal como almidón pregelatinizado, dextrina y similares; un edulcorante; un antioxidante; un conservante; un agente aromatizante; una fragancia; y similares.

El medicamento puede estar en forma de un comprimido, una cápsula, una píldora, un polvo, un gránulo, un jarabe, una solución, una emulsión, una inyección, un pulverizador, un aerosol o un parche.

20 El medicamento se puede administrar por la vía gastrointestinal y por la vía parenteral. En particular, la vía de administración parenteral se selecciona del grupo que consiste en administración por inyección, administración por vía respiratoria, administración transdérmica, administración de mucosa o administración de cavidad.

La formulación para administración parenteral se puede seleccionar del grupo que consiste en una inyección, un pulverizador, un aerosol y una pasta.

La formulación para administración gastrointestinal se puede seleccionar del grupo que consiste en un comprimido, una cápsula, un polvo, un gránulo, una píldora, una solución, una emulsión y un jarabe.

25 En otro aspecto de la presente invención, se proporciona un medicamento para prevenir, mejorar y/o tratar el trastorno de ansiedad y el trastorno del sueño, en el que el medicamento consiste en albiflorina y un portador farmacéuticamente aceptable.

30 Una sal farmacéuticamente aceptable de albiflorina puede ser una sal fisiológicamente aceptable de la misma. La sal puede incluir una sal de adición formada con albiflorina y ácido. En particular, el ácido se puede seleccionar del grupo que consiste en uno o más de ácido clorhídrico, ácido fumárico, ácido maleico, ácido cítrico o ácido succínico. Un solvato de albiflorina puede ser un hidrato de albiflorina.

En otro aspecto de la presente invención, se proporciona un alimento para el cuidado de la salud para prevenir, mejorar y/o tratar el trastorno de ansiedad y el trastorno del sueño, en el que el medicamento consiste en albiflorina y un portador farmacéuticamente aceptable.

35 La cantidad terapéuticamente eficaz de albiflorina puede ser de 0.6-4 mg/kg/d, preferiblemente de 1-3.5 mg/kg/d, y más preferiblemente de 1.2-2 mg/kg/d.

40 A menos que se indique lo contrario, el término "cantidad terapéuticamente eficaz" como se utiliza en este documento se refiere a la cantidad de medicamento destinada a tener efecto deseable; la "cantidad terapéuticamente eficaz" se puede modificar y cambiar y finalmente determinar por el personal médico y los factores que deben tenerse en cuenta incluyen las vías de administración y las propiedades de la formulación; peso corporal, edades y otras condiciones generales de los sujetos, así como la naturaleza y gravedad de las enfermedades que se van a tratar.

La presente invención se basa en las siguientes observaciones:

45 1. La presente invención explora el nuevo valor medicinal del compuesto conocido albiflorina para su uso en el tratamiento del trastorno de ansiedad y la mejora del trastorno del sueño (activando el receptor 5-HT_{1A}, la albiflorina puede aumentar significativamente el SWS para lograr la eficacia contra la ansiedad y mejora del sueño) y proporciona un medicamento o un alimento para el cuidado de la salud para prevenir, aliviar y/o tratar el trastorno del sueño asociado con depresión, en el que el medicamento o alimento para el cuidado de la salud consiste en albiflorina y un portador farmacéuticamente aceptable.

50 2. Una serie de estudios experimentales en relación con la presente invención muestran que la albiflorina tiene un efecto significativo en la prevención y tratamiento del trastorno de ansiedad y del trastorno del sueño y es el principal componente activo para el tratamiento del trastorno de ansiedad y del trastorno del sueño (especialmente el

trastorno del sueño asociado con la depresión) en *Paeonia lactiflora* Pall y el extracto de *Paeonia lactiflora* Pall. Este descubrimiento corrige la visión tradicional de que el paeoniflorina es el principal componente activo de los glucósidos totales de paeony para el tratamiento del trastorno de ansiedad y el trastorno del sueño.

5 3. Se ha demostrado que la albiflorina tiene un mecanismo de acción claro para tratar el trastorno de ansiedad y el trastorno del sueño, y tiene un efecto terapéutico significativo, efectos secundarios y toxicidad bajos, y alta seguridad, que se podría administrar durante mucho tiempo y tiene una alta capacidad de fármaco y una buena perspectiva en la aplicación farmacéutica.

10 4. La albiflorina se puede preparar de fuentes de bajo costo de materias primas, tiene alta seguridad clínica y un proceso de preparación simple. Se puede formular en diversas formas de dosificación, administrar en una dosis pequeña, aplicar fácilmente y, de este modo, promoverse fácilmente.

Realizaciones preferidas

La presente invención se describirá ahora adicionalmente con referencia a los siguientes ejemplos. En los siguientes ejemplos, los métodos experimentales sin condiciones específicamente indicadas están a menudo de acuerdo con las condiciones convencionales o de acuerdo con las condiciones recomendadas por los fabricantes.

15 Los efectos beneficiosos de los medicamentos de la presente invención se describirán adicionalmente por medio de los siguientes ejemplos experimentales; estos ejemplos experimentales incluyen los ensayos farmacodinámicos de los medicamentos de la presente invención.

Ejemplo 1

20 Se adicionaron 100 g de albiflorina con una pureza de 96.77% a 50 g de almidón y 10 g de sílica de almidón, se mezclaron bien y luego se rellenaron directamente en cápsulas de gelatina dura, para obtener las cápsulas que comprendían 40 mg de albiflorina por cápsula.

Ejemplo 2

25 Se molieron 100 g de albiflorina con una pureza del 92% y se tamizaron a través de un tamiz de malla 100 y luego se mezclaron bien con 100 g de almidón que se tamizó a través de un tamiz de malla 100. Se adicionó a esta una cantidad apropiada de lechada de almidón bajo agitación homogénea, se tamizó a través de un tamiz de alambre de hierro de malla 16, se secó por debajo de 60°C y luego se granuló. Se adicionó a esta una cantidad apropiada de estearato de magnesio, se mezcló bien y se colocó en una prensa de comprimidos para obtener los comprimidos que comprenden 30 mg de albiflorina por comprimido.

Ejemplo 3

30 Se adicionaron 10 g de albiflorina con una pureza de 98.5% y 90 g de cloruro de sodio al agua para inyección y se disolvieron bajo agitación. Cuando se adicionó agua para inyección hasta 1000 ml, la solución se filtró a continuación con un filtro de membrana microporosa de 0.22 µm, se subdividió y selló y se esterilizó para obtener una formulación de infusión de albiflorina y cloruro de sodio.

Ejemplo 4

35 Se molieron 100 g del extracto de *Paeonia lactiflora* Pall con un contenido de albiflorina del 16% hasta 200 mallas, se adicionaron en 100 g de carboximetil celulosa de sodio hinchada (CMC) y se agitaron homogéneamente. Se adicionó a esta agua destilada hasta 10 L, y se agitó para obtener una suspensión, que comprende 10 mg de albiflorina por mililitro de suspensión.

Ejemplo 5 Efecto de la albiflorina en ratones en la prueba de caja luz-oscuridad (prueba de antiansiedad)

40 5.1 Materiales y métodos experimentales

5.1.1 Fármacos

La albiflorina (96.77%), suministrado por Beijing Wonner Biotech Co., Ltd. (Beijing, China). Diazepam, producido por Jin-Hui Amino Acid Co., Ltd. (Tianjin, China).

5.1.2 Animales

45 Ratones KM, machos, con el peso de 24-26 g, Clase 2, suministrado por the Experimental Animal Center, Peking University Health Science Center.

5.1.3 Equipos

Caja luz-oscuridad hecha en casa.

5.1.4 Métodos

5.1.4.1 Agrupación y métodos de administración de animales

5 Los ratones se dividieron al azar en 5 grupos, esto es, grupo de dosis alta (14 mg/kg/d), grupo de dosis media (7 mg/kg/d), grupo de dosis baja (3.5 mg/kg/d) de albiflorina, grupo de diazepam (2.5 mg/kg/d), grupo NS. La administración por sonda gástrica se realizó una vez al día, durante 7 días consecutivos. Durante la administración, los animales tenían libre acceso a pienso y agua. El ensayo se realizó 1 hora después de la administración el día 8.

5.1.4.2 Pruebas de caja luz-oscuridad en ratones

10 Dentro de la caja luz-oscuridad (44 cm x 21 cm x 21 cm), la caja oscura representa un tercio de la misma, con una tapa en la parte superior; mientras que la caja de luz representa dos tercios de la misma, proporcionando brillo de iluminación; y hay un agujero entre las dos cajas para que el animal pase a través. En la prueba, los ratones se colocaron en el centro de la caja de luz, de nuevo a la caja oscura, y luego se observó. Se contaron los tiempos de entrada en la caja oscura seguida por el retorno a la caja de luz en ratones, como un índice para el aumento del efecto antiansiedad de un fármaco.

5.1.5 Análisis estadístico

15 Los datos se expresaron como $\bar{X} \pm SD$, y los resultados experimentales se analizaron por test ANOVA de una vía, utilizando el software estadístico SPSS 11.5.

5.2 Resultados

20 El efecto de la albiflorina en los tiempos de paso a través de la caja en ratones en ensayo de caja luz-oscuridad se muestra en la tabla 1. Todos los grupos de albiflorina de dosis alta, media y baja, así como el grupo de diazepam puede aumentar significativamente los tiempos de retorno de la caja oscura de nuevo a la caja de luz en ratones, y tienen significación estadística en comparación con el grupo NS.

Tabla 1 Efecto de la albiflorina en los tiempos de paso a través de la caja en ratones en la prueba de caja luz-oscuridad

	Número de animales	Dosis (mg/kg/d)	Tiempos de retorno de la caja oscura a la caja de luz
Dosis alta de albiflorina:	10	14 mg/kg/d	12.1±3.51 **
Dosis media de albiflorina:	10	7mg/kg/d	13.4±3.23 **
Dosis baja de albiflorina:	10	3.5 mg/kg/d	10.6±3.42 *
Diazepam	10	2.5 mg/kg/d	13.6±3.35 **
NS	10	-----	6.9±3.74

Nota: * P <0.05,

** P <0.01, en comparación con el grupo NS.

25 5.3 Conclusiones

30 La prueba de caja luz-oscuridad es un modelo experimental para estudio antiansiedad, que está diseñado sobre la base de la aversión congénita a la luz dura y el comportamiento exploratorio espontáneo en un nuevo entorno de murino. Todos los fármacos que tienen efecto antiansiedad pueden aumentar la velocidad de paso a través de la caja y el tiempo de residencia en caja de luz del animal; sin embargo, los agentes no antiansiedad no tienen dicho efecto. Los resultados de la prueba de caja luz-oscuridad empleada en la presente invención mostraron que todos los grupos de albiflorina, de dosis alta, media y baja, así como el grupo de diazepam, pueden aumentar significativamente los tiempos de retorno de la caja oscura de nuevo a la caja de luz en ratones, y tienen significación estadística en comparación con el grupo NS (P <0.01, P <0.05). Los resultados experimentales mostraron que la albiflorina tenía efecto antiansiedad.

35 Ejemplo 6 Efecto de la albiflorina en los ritmos del sueño en ratas

6.1 Reactivos y materiales

6.1.1 Materiales

6.1.1.1 Fármacos

La albiflorina (98.3%), suministrada por Beijing Wonner Biotech Co., Ltd. se disuelve en NS y se prepara en la concentración requerida antes del uso.

5 6.1.1.2 Animales

Ratas macho SD, n=30, con el peso de 200-250 g, 3-4 meses de edad, suministrado por Vital River Experimental Animal Center.

6.1.1.3 Equipos

10 Registrador fisiológico de 8 vías, de tipo NISSAN RM-6000, instrumento estereotáctico doméstico general de tipo C JIANGWAN I.

6.2 Métodos

6.2.1 Instalación de electrodos de registro en ratas

15 La rata se anestesió con pentobarbital sódico (35 mg/kg, ip), se fijó en un instrumento estereotáctico de tipo JIANGWAN I, pelada en la cabeza y desinfectada. Se realizó una incisión de la piel para exponer el cráneo, separar el periostio e insertar un electrodo de tornillo chapado en oro en la corteza parietal y la corteza occipital, respectivamente, haciéndolos contactar con la duramadre con el fin de registrar el electroencefalograma cortical (EEO) en la rata. Además, se insertó un par de electrodos de alambre pelado chapado en oro a los lados izquierdo y derecho del músculo premuscular o del cuello, respectivamente, para registrar el electromiograma (EMG). Después de la incrustación, los electrodos se fijaron con un polvo de prótesis dental de autocurado, y se soldaron a un micro-enchufe para el uso del registro.

6.2.2 Análisis y registros experimentales

25 Las ratas incrustadas con electrodos de registro se alojaron individualmente en una jaula de plexiglás circular hecha en casa, y se aplicaron al experimento después de dejarse recuperar naturalmente durante 1 semana. Antes del experimento, los animales fueron colocados en una habitación blindada sin interferencia de ruido para aclimatarse durante 24h, manteniendo un cambio rítmico 12/12h de luz y oscuridad. La temperatura ambiente fue de $22\pm 2^{\circ}\text{C}$, la humedad fue de 60 ± 10 , las señales de EEG y EMG fueron recibidas por registrador fisiológico de 8 vías y graficadas sincrónicamente en papel de registro (velocidad de papel: 10 mm/s) durante 6h consecutivas. Se registró el resultado de la observación: mediante el método visual, se divide en 3 fases, el despertar, el sueño de onda lenta y el sueño paradójico (PS), tomando 60s durante un período para calcular la frecuencia de episodios y el episodio durante cada fase.

6.3 Resultados

35 Se agruparon y administraron 30 ratas incrustadas con electrodos de acuerdo con la Tabla. La polisomnografía normal se representó gráficamente dos veces antes de la administración (una gráfica para cada día y seis horas consecutivas para una gráfica), y el valor medio de la misma se tomó como un control básico normal. Los resultados en la tabla 2 mostraron que después de la administración consecutiva de dos dosis de albiflorina durante un día, no hay ningún efecto significativo en cada fase de sueño de ratas; después de la administración consecutiva durante cinco días, el grupo de dosis baja de albiflorina (7 mg/kg) mostró una tendencia de fase SWS prolongada; después de la administración consecutiva durante siete días, este grupo de dosis baja podría acortar significativamente el tiempo de vigilia de las ratas, y prolongar el tiempo de sueño de onda lenta (SWS). Comparado con el anterior a la administración, la fase SWS se prolongó en un promedio de 23.26% ($P < 0.05$), mientras que PS no se afectó significativamente.

Tabla 2 Efecto de la albiflorina en el periodo de sueño en ratas (durante 6h consecutivas) ($\bar{x}\pm s$)

Fármaco	Dosis (mg/kg/d)	n	Fase de sueño	Antes de la administración (%)	Día 1	Día 3	Día 5	Día 7
NS	-	10	SWS	51.7 $\pm$ 4.3	51.2 $\pm$ 5.5	52.5 $\pm$ 6.6	54.2 $\pm$ 5.4	54.2 $\pm$ 4.1
			PS	7.2 $\pm$ 1.1	7.5 $\pm$ 1.6	7.3 $\pm$ 1.4	8.1 $\pm$ 2.0	7.3 $\pm$ 1.4
			Vigilia	41.8 $\pm$ 4.9	40.8 $\pm$ 5.0	39.6 $\pm$ 5.5	37.6 $\pm$ 6.1	38.7 $\pm$ 4.0
Albiflorina	14	10	SWS	50.4 $\pm$ 4.6	52.1 $\pm$ 4.8	53.3 $\pm$ 5.1	54.5 $\pm$ 5.5	55.1 $\pm$ 3.2

			PS	6.9±0.8	7.0±1.2	7.3±1.3	7.6±1.5	6.1±1.2
			Vigilia	37.1±3.3	36.5±6.5	36.7±7.0	30.4±7.5	36.4±4.5
	7	10	SWS	54.6±3.4	55.9±6.7	56.3±5.9	61.8±6.1	67.3±3.6*
			PS	8.1±0.8	7.7±1.8	7.2±1.3	8.0±1.5	7.2±1.1
			Vigilia	40.6±4.8	41.2±5.3	40.1±5.6	37.6±4.5	38.6±4.2
Nota: en comparación con el anterior a la administración, * P <0.05								

6.4 Discusiones

Los resultados experimentales mostraron que:

1. La albiflorina (7 mg/kg, igx7d) podría cambiar la distribución de diversas fases del sueño en ratas normales, mostrando que el tiempo de vigilia de las ratas se acorta, y el tiempo SWS se prolongó significativamente.
2. El mecanismo de acción del efecto del albiflorina sobre el sueño puede estar asociado con la estimulación del receptor 5-HTA1 en la membrana postsináptica del nervio central, y este problema necesita ser estudiado más a fondo.

Ejemplo 7 Estudio sobre los efectos mejoradores del sueño de paeoniflorina y albiflorina

7.1 Agrupación y administración de animales

7.1.1 Agrupación de animales

- Se dividieron al azar 140 ratones ICR (15-17 g, machos, adquiridos de Institute of Laboratory Animal Sciences, CAMS & PUMC)) en 10 grupos (14 ratones por grupo) de la siguiente manera: grupo paeoniflorina a una dosis de 100 mg/kg, grupo de paeoniflorina a una dosis de 50 mg/kg, grupo de paeoniflorina a una dosis de 25 mg/kg, grupo de paeoniflorina a una dosis de 12.5 mg/kg, grupo albiflorina a una dosis de 28 mg/kg, grupo albiflorina a una dosis de 14 mg/kg, grupo de albiflorina a una dosis de 7 mg/kg, grupo de control de solución salina normal, grupo de dosis alta de doxepina como fármaco positivo (25 mg/kg) y grupo de dosis baja de doxepina como fármaco positivo (1 mg/kg).

7.1.2 Reactivos

- La albiflorina y paeoniflorina (suministrados por Beijing Wonner Biotech Co., Ltd.); clorhidrato de doxepina (preparado por Hengsheng Pharmaceutical Co., Ltd., Beijing, China, comprado al Hospital Tiantan); Diazepam (preparado por Yimin Pharmaceutical Co., Ltd., Beijing, China, comprado al Hospital Tiantan); pentobarbital sódico (adquirido de Sinopharm Chemical Reagent Beijing Co., Ltd.).

7.2 Métodos Experimentales

7.2.1 Criterios de evaluación de la latencia del sueño, la duración del sueño y la velocidad de sueño

- Si los ratones se mantuvieran en posición supina durante más de 1 min, se consideraría que el reflejo de enderezamiento había desaparecido en ratones. Después de rodar espontáneamente, los ratones se colocaron inmediatamente en posición supina. Si los ratones pudieran rodar dentro de 1 minuto, se consideraría que el reflejo de enderezamiento se recuperó. Se registró el tiempo del reflejo de enderezamiento que desapareció y se recuperó en ratones. El periodo de los ratones inyectados por vía intraperitoneal con pentobarbital sódico hasta que desapareció el reflejo de enderezamiento en ratones se registró como latencia de sueño. El periodo desde el reflejo de enderezamiento desapareció en ratones hasta que el reflejo de enderezamiento que se recuperó en ratones se registró como duración del sueño. La duración del sueño de más de 5 min en ratones se consideró como estar dormido.

7.2.2 Determinación de la dosis del supraumbral mínima y de la dosis de subumbral máxima de pentobarbital sódico

- Se seleccionaron al azar 4 ratones, se les inyectó por vía intraperitoneal pentobarbital sódico (45 mg/kg, 0.1 ml/10 g) y se observó que el reflejo de enderezamiento desapareció y se recuperó en ratones dentro de los 15 minutos, los criterios de evaluación se pueden encontrar en la sección 7.2.1. Según los resultados experimentales, las dosis de pentobarbital sódico se ajustaron adicionalmente a 51 mg/kg, 40 mg/kg, 35 mg/kg y 38 mg/kg. Se observó que el reflejo de enderezamiento desapareció y se recuperó en 15 minutos en ratones para confirmar preliminarmente que la dosis subumbral máxima de pentobarbital sódico era de 35 mg/kg, la dosis supraumbral mínima fue de 51 mg/kg. De acuerdo con los mismos métodos experimentales, el número de ratones se incrementó adicionalmente, y se

observó que el reflejo de enderezamiento desapareció y se recuperó en 15 minutos en ratones. La dosis de pentobarbital sódico que hace que el 100% de los ratones en cada grupo este dormido fue la dosis supraumbral, mientras que la dosis que hace que más del 90% de los ratones en cada grupo no duerma era la dosis subumbral de pentobarbital sódico.

5 7.2.3 La prueba de prolongación del sueño de pentobarbital sódico en la dosis supraumbral

Los ratones se administraron con fármacos durante 10 días consecutivos. 1h después de la última administración, se inyectó por vía intraperitoneal a los ratones la dosis supraumbral de pentobarbital sódico (51 mg/kg, 0.1 ml/10 g). Se observó que el reflejo de enderezamiento desapareció y se recuperó en ratones y se registró el tiempo del reflejo de enderezamiento que desapareció y se recuperó en ratones. Los criterios de evaluación de la latencia del sueño, la duración del sueño y la velocidad de sueño fueron los mismos que los de la sección 7.2.1.

10 7.2.4 La prueba de inducir el sueño del pentobarbital sódico en la dosis subumbral

Los ratones se administraron con fármacos durante 14 días consecutivos. 1 h después de la última administración, a los ratones se les inyectó por vía intraperitoneal la dosis subumbral de pentobarbital sódico (35 mg/kg, 0.1 ml/10 g). Se observó que el reflejo de enderezamiento desapareció y se recuperó en ratones y se registró el tiempo del reflejo de enderezamiento que desapareció y se recuperó en ratones. Los criterios de evaluación de la latencia del sueño, la duración del sueño y la velocidad de sueño fueron los mismos que los de la sección 7.2.1.

15 7.3 Resultados experimentales

Tabla 3 Efectos de paeoniflorina y albiflorina en la prolongación del sueño de pentobarbital sódico a la dosis supraumbral (10 días después de la administración)

Grupos	Latencia de sueño (min)	Duración de sueño (min)
Albiflorina (28 mg/kg)	13.17±23.54	84.14±20.72
Albiflorina (14 mg/kg)	5.89±3.12	87.66±32.04 *
Albiflorina (7 mg/kg)	4.45±1.89	97.46±11.81 **
Paeoniflorina (100mg/kg)	28.10±44.63	72.98±20.83
Paeoniflorina (50mg/kg)	5.17±1.37	73.70±27.88
Paeoniflorina (25mg/kg)	4.96±2.18	68.64±19.23
Paeoniflorina (12.5mg/kg)	4.11±1.52	74.57±13.02
Doxepina (1mg/kg)	4.38±1.60	74.91±16.55
Doxepina (25mg/kg)	4.72±2.40	63.60±12.09
Control solución salina normal	6.05±4.78	69.83±24.24

Los datos se expresaron como la media ± S.D., Test de ANOVA de una vía,

P <0.05,

** P <0.01

20

Tabla 4 Efectos de paeoniflorina y albiflorina en la inducción del sueño de pentobarbital sódico en la dosis subumbral (14 días después de la administración)

Grupos	Número de ratones/grupo	Número de ratones que duermen/Grupo	Velocidad de sueño
Albiflorina (28 mg/kg)	13	0	0/13
Albiflorina (14 mg/kg)	13	8	8/13*
Albiflorina (7 mg/kg)	13	10	10/13*
Paeoniflorina	11	3	3/11

(100mg/kg)

Paeoniflorina (50mg/kg)	12	5	5/12
Paeoniflorina (25mg/kg)	12	4	1/3
Paeoniflorina (12.5mg/kg)	12	2	2/13
Doxepina (1mg/kg)	12	1	1/12
Diazepam (2mg/kg)	13	12	12/13*
Control solución salina normal	13	2	2/13

Los datos se expresaron como la media $\pm$ S.D., Test de Chi-cuadrado,

P <0.05,

** P <0.01

Tabla 5 Efectos de paeoniflorina y albiflorina en acciones espontáneas en ratones (14 días después de la administración)

Grupos	Tiempos de acción espontánea
Albiflorina (28 mg/kg)	476.78 $\pm$ 113.78
Albiflorina (14 mg/kg)	393.28 $\pm$ 107.73*
Albiflorina (7 mg/kg)	342.64 $\pm$ 133.38**
Paeoniflorina (100mg/kg)	434.45 $\pm$ 76.43
Paeoniflorina (50mg/kg)	503.00 $\pm$ 137.04
Paeoniflorina (25mg/kg)	468.71 $\pm$ 73.56
Paeoniflorina (12.5mg/kg)	456.71 $\pm$ 93.95
Doxepina (1mg/kg)	420.50 $\pm$ 110.28
Diazepam (2mg/kg)	301.85 $\pm$ 103.11**
Control solución salina normal	482.46 $\pm$ 74.15

Los datos se expresaron como la media $\pm$ S.D., Test de ANOVA de una vía,

P <0.05,

** P <0.01

5 7.4 Resultados experimentales

Después de que la administración se realizó durante 10 días consecutivos, el grupo de albiflorina (14 mg/kg) y el grupo de albiflorina (7 mg/kg) podrían prolongar significativamente el tiempo de sueño a la dosis supraumbral de pentobarbital sódico; después de que la administración se realizó durante 14 días consecutivos, el grupo de albiflorina (14 mg/kg), el grupo de albiflorina (7 mg/kg) y el grupo de fármaco positivo de diazepam podrían aumentar significativamente la velocidad de sueño a la dosis subumbral de pentobarbital sódico y disminuir los tiempos de acción espontánea. Los resultados sugieren que la albiflorina (14 mg/kg) y la albiflorina (7 mg/kg) pueden tener un efecto hipnótico hasta cierto punto.

Ejemplo 8 Efecto de extracto de *Paeonia lactiflora* Pall (que comprende 16% de albiflorina) sobre la expresión del ARNm del receptor 5-HT1A en ratas de estrés crónico

8.1 Materiales experimentales

8.1.1 Medicamentos experimentales

- 5 El fármaco de prueba, el extracto *Paeonia lactiflora* Pall (que comprende 16% de albiflorina), suministrado por Beijing Wonner Biotech Co., Ltd. Fármaco positivo, clorhidrato de fluoxetina (fluoxetina, Prozac), suministrado por Eli Lilly & Company (LLY), Suzhou, China (Número de Lote: Número de Aprobación de Medicamento Chino: J20030017).

8.1.2 Animales experimentales

- 10 Ratas Wistar, macho, con el peso de 220 g-240 g, suministradas por el Beijing Vital River Experimental Animal Center; todos los animales fueron adquiridos una semana por adelantado, y alimentados rutinariamente.

8.1.3 Equipos y reactivos

- 15 Centrífuga universal de alta velocidad 32R de baja temperatura (Hettich, Alemania); CD3192 baño de agua de temperatura constante eléctrica (Charcoal-in-Snow Thermostat Technology Co., Ltd., Hangzhou, China); SPECTRAmax190 (Molecular Devices, EE.UU.); instrumento PTC-200 PCR (MJ Research, EE.UU.); Medidor de electroforesis DYY-8C (Liuyi Instrument Factory, Beijing, China); sistema de análisis de imágenes gel quimioluminiscente Tipo ChampChemi X (Saizhi Chuangye Technology Co., Ltd., Beijing, China); Kit RevertAid First Strand cDNA Synthesis DEPC (Amresco), TRIzol (Invitrogen), (Fermentas).

8.2 Métodos

8.2.1 Agrupación y administración

- 25 Después de tener acceso libre a los alimentos y que han sido privados de agua durante 24 horas, se administraron 72 ratas normales con solución acuosa de sacarosa al 1%, y se midió el consumo en 1h. De acuerdo con el consumo de solución acuosa de sacarosa, las ratas se dividieron aleatoriamente en seis grupos, 12 ratones por grupo, esto es, grupo de control normal, grupo de modelo, grupo positivo de fármaco Prozac (2.5 mg/kg/d), grupo de dosis alta (70 mg/Kg/d, que comprende 11.2 mg de albiflorina), un grupo de dosis media (35 mg/kg/día, que comprende 5.6 mg de albiflorina) y un grupo de dosis baja (17.5 mg/kg/d, que comprende 2.8mg de albiflorina) de extracto de *Paeonia lactiflora* Pall. Cuando de utilizaron como modelo, las ratas se administraron simultáneamente con fármacos, una vez al día, durante 21 días consecutivos. Las ratas en diversos grupos se administraron a una dosis de 1.0 ml/100 g con respecto al peso corporal, y se pesaron una vez por semana.

8.2.2 Realización del modelo

- 35 Las ratas en el grupo de control se alimentaron de forma agrupada, mientras que las ratas en el grupo de tratamiento y en el grupo de modelo se alimentaron separadamente por jaula. Las ratas del grupo de tratamiento y del grupo de modelo fueron sometidas aleatoriamente a diversas condiciones de estrés durante 21 días, incluyendo nadar en el agua helada a 4°C (5 minutos), secar a 45°C (5 minutos), cortar la cola (1 minuto), alimentación húmeda (lecho húmedo), reverso día y noche (24h), ayuno (24h), privación de agua (24h) y similares.

8.2.3 Pruebas de RT-PCR

8.2.3.1 Muestreo

Una vez completado el estrés crónico, la rata fue inmediatamente decapitada. El cerebro fue sacado y colocado en el hielo. El hipocampo se separó rápidamente y se almacenó a una temperatura baja de -70°C para uso posterior.

8.2.3.2 Extracción de los ARN totales

De acuerdo con la instrucción del reactivo TRIzol, los ARN totales se extrajeron mediante un método de guanidina-isotiocianato en una sola etapa. La integridad de los ARN totales extraídos fue confirmada por electroforesis en gel de agarosa al 0.9%, y el contenido y pureza de ARN se determinaron por espectrofotómetro UV.

8.2.3.3 RT-PCR

- 45 A los ARN totales como muestra, se les adicionaron Oligo (dT) y M-MLV transcriptasa inversa. Se hicieron reaccionar 25 µl del sistema de reacción a 42°C durante 60 minutos para sintetizar la primera cadena de ADNc. Después de eso, se calienta a 94°C, durante 2 min para inactivar la transcriptasa inversa. De acuerdo con la instrucción de PCR, en un sistema de 25 µl, se tomaron 2 µl de reactivo mencionado anteriormente. A esto se le adicionaron 12.5 µl de PCRMix, y se le adicionaron 2 µl de los dos cebadores siguientes, respectivamente. Las secuencias del cebador 5-HT1A-R son: secuencia arriba 5' CCC AGC GAG TCA GGA TCT AAC 3', secuencia abajo
- 50

5' GAT TGA GCA GGG AGT TGG AGT 3', con una longitud de amplificación de 268pb. Las secuencias del cebador de β actina son: secuencia arriba 5' CAT CCT GCG TCT GGA CCT 3', secuencia abajo 5' CAC ACA GAG TAC TTG CGC TCA 3', con una longitud de amplificación de 498pb. La condición de reacción de la PCR fue la siguiente: desnaturalización a 95°C durante 5 min. 95°C, durante 30 segundos; 58°C, durante 30 segundos; 72°C, durante 30 segundos; 25 ciclos en total.

8.2.3.4 Análisis semicuantitativo de los productos amplificados

Se mezclaron 30 μ l de producto amplificado con 5-HT1A-R y 10 μ l de producto amplificado con Actina, y después se sometieron a electroforesis en gel de agarosa al 1.5%. La electroforesis se realizó a 100 V durante 30 min. Después de la adquisición de la imagen por medio de un sistema de análisis de imagen de gel quimioluminiscente, el barrido gris de las bandas se realizó mediante el software de procesamiento y análisis de imágenes en gel ChampGel. La proporción de IOD5-HTR/IODActin fue la cuantificación relativa de los productos amplificados, y se realizaron las comparaciones intergrupo.

8.2.4 Análisis estadístico

Los datos experimentales se expresaron como la media $\pm$ desviación estándar ($\bar{X} \pm S$). La comparación intergrupar se realizó mediante un test ANOVA de una vía, utilizando software estadístico SPSS13.0, 0.05 y 0.01 se consideraron como nivel de significación.

8.3 Resultados experimentales

Efecto del extracto de *Paeonia lactiflora* Pall (que comprende 16% de albiflorina) sobre la expresión del ARNm del receptor 5-HT1A en ratas con estrés crónico se mostró de la siguiente manera: después de la administración durante 21 días consecutivos, en comparación con el grupo de control normal, el nivel de la expresión del ARNm del receptor 5-HT1A disminuyó en las ratas del grupo modelo ($P < 0.05$); en comparación con el grupo de modelo, los niveles de expresión de ARNm del receptor 5-HT1A aumentaron en las ratas del grupo de dosis altas y del grupo de dosis media de *Paeonia lactiflora* Pall, así como en el grupo del fármaco positivo Prozac ($P < 0.05$); Véase la Tabla 6.

Tabla 6 Efecto del extracto de *Paeonia lactiflora* Pall (que comprende 16% de albiflorina) en la expresión del ARNm del receptor 5-HT1A en ratas con estrés crónico

Grupos	Dosis (mg/kg)	Número de muestras	Expresión de ARNm del receptor 5-HT1A
Control Normal	-	6	0.70 $\pm$ 0.16 *
Modelo	-	6	0.31 $\pm$ 0.07
Fármaco positivo	2.5 mg/kg/d	6	0.63 $\pm$ 0.21 *
Baja dosis de extracto de <i>Paeonia lactiflora</i> Pall	17,5 mg/kg/d	6	0,39 $\pm$ 0,23
Dosis media de extracto de <i>Paeonia lactiflora</i> Pall	35 mg/kg/d	6	0.63 $\pm$ 0.11 *
Dosis alta de extracto de <i>Paeonia lactiflora</i> Pall	70 mg/kg/d	6	0.63 $\pm$ 0.14 *

En comparación con el grupo de modelo, * $P < 0.05$,
 ** $P < 0.01$

8.4 Discusiones

El hipocampo es una importante estructura del sistema límbico implicada en la regulación del afecto, la cognición y el comportamiento, siendo rico en receptores 5-HT1A de la membrana postsináptica. El presente experimento emplea un modelo crónico e impredecible de depresión inducida por el estrés en rata para simular la depresión crónica y de bajo nivel inducida por estrés en humanos, para estudiar el 5-HT1AR en el hipocampo y explorar la causa bioquímica de la depresión en el receptor nivel.

El 5-HT1AR, que comprende 421 aminoácidos, pertenece a la familia de receptores acoplados a proteína G. El gen 5-HT1AR humano está localizado en la región q11.2-q13 del cromosoma 5. El autorreceptor 5-HT1AR de membrana

presináptica se localiza principalmente en las dendritas del cuerpo de la célula neuronal 5-HT del núcleo del rafe dorsal en el tronco encefálico, cuya activación inhibe la actividad eléctrica de las neuronas 5-HT y reduce la liberación del neurotransmisor 5-HT en la corteza prefrontal. La membrana postsináptica 5-HT_{1A}R se localiza principalmente en el hipocampo, amígdala, corteza prefrontal, regulando la liberación de 5-HT. El mecanismo de transducción principal de 5-HT_{1A}R es la adenilato ciclasa (AC) inhibidora de la transducción acoplada a la proteína G. Aunque hay muchos informes sobre 5-HT_{1A}R y depresión, pero no hay una comprensión uniforme. Existe un grupo de estudios básicos que informan que el estrés agudo y crónico impredecibles aumentan el glucocorticoide en el plasma, y reducen la expresión de la unión de 5-HT_{1A}R y los niveles de ARNm de 5-HT_{1A}R. Cuando se utilizó el método [¹¹C] WAY-100635PET para determinar el 5-HT_{1A}R en el cerebro, Sargent encontró que las uniones de 5-HT_{1A}R en corteza prefrontal, corteza temporal y corteza límbica de pacientes que tenían depresión severa fueron generalmente disminuidos. Stockmeier et al. informaron que la membrana presináptica 5-HT_{1A}R unida a la [³H] 8-OH-DPAT aumentó significativamente en el área del núcleo del rafe del tronco encefálico de un paciente suicida con depresión. Estas evidencias se utilizan para apoyar la visión de "cuando sufren de la depresión, la presináptica membrana 5-HT_{1A}R autorreceptor es hipersensible, mientras que la membrana postsináptica 5-HT_{1A}R es hiposensible". Los antidepresivos tricíclicos juegan un efecto antidepresivo al aumentar la sensibilidad de la membrana postsináptica 5-HT_{1A}R. El inhibidor de la recaptación de 5-HT (SSRI) desensibiliza el autorreceptor de la membrana presináptica 5-HT_{1A}R, con lo cual desempeña un efecto antidepresivo. El antagonista del autorreceptor 5-HT_{1A}R puede mejorar el efecto antidepresivo de los ISRS y acortar significativamente el inicio de la acción antidepresiva. La bupiriona puede excitar selectivamente la membrana postsináptica 5-HT_{1A}R, teniendo un efecto antidepresivo significativo.

Los resultados experimentales mostraron que los niveles de expresión del ARNm del receptor 5-HT_{1A} se disminuyeron en el hipocampo del modelo de rata de la depresión inducida por el estrés, lo cual es consistente con reportes externos recientes, sugirió que el receptor 5-HT_{1A} del hipocampo estaba estrechamente relacionado con la aparición de depresión inducida por el estrés crónica. El fármaco de prueba, extracto de *Paeonia lactiflora* Pall (que comprende 16% de albiflorina) podría trabajar en contra de la disminución de la expresión del ARNm del receptor 5-HT_{1A} en el hipocampo, que fue causada por el estrés crónico. Los resultados sugirieron que los efectos del antidepresivo, la antiansiedad y la mejora del sueño mediante la prolongación de SWS podría estar asociado con la inducción de la expresión del receptor 5-HT_{1A} en el hipocampo.

REIVINDICACIONES

1. Uso de albiflorina en la preparación de un medicamento o un alimento para el cuidado de la salud para prevenir, aliviar y/o tratar el trastorno de ansiedad y trastorno del sueño, en el que dicho medicamento consiste en albiflorina y un portador farmacéuticamente aceptable.
- 5 2. El uso según la reivindicación 1, caracterizado porque dicho trastorno del sueño es el insomnio, representado principalmente como dificultades persistentes del sueño y despertar temprano, dicho trastorno del sueño incluye también el trastorno del sueño asociado con ansiedad y/o depresión.
- 10 3. El uso según la reivindicación 1, caracterizado porque dicho medicamento está en forma de un comprimido, una cápsula, una píldora, un polvo, un gránulo, un jarabe, una solución, una emulsión, una inyección, una pulverización, un aerosol o parche.
4. El uso según la reivindicación 1, en el que el medicamento es una cápsula que comprende 40 mg de albiflorina y que se prepara adicionando 100 g de albiflorina que tiene una pureza de 96.77% a 50 g de almidón y 10 g de sílica de almidón, mezclando y rellenando directamente en cápsulas de gelatina dura.
- 15 5. El uso según la reivindicación 1, en el que el medicamento es un comprimido que comprende 30 mg de albiflorina y que se prepara por molienda y tamizado de 100 g de albiflorina que tiene una pureza de 92% a través de un tamiz de malla 100, mezclando con 100 g de almidón que se muele y tamiza a través de un tamiz de malla 100, adicionando la lechada de almidón, tamizando a través de un tamiz de alambre de hierro de malla 16, secando por debajo de 60°C, granulando, adicionando estearato de magnesio y prensando en comprimidos.
- 20 6. El uso según la reivindicación 1, en el que el medicamento es una formulación de infusión que se prepara disolviendo 10 g de albiflorina que tiene una pureza de 98.5% y 90 g de cloruro de sodio en agua hasta un volumen de 1000 ml, filtrando a través de un filtro de membrana de 0.22 µm, sellado, y esterilización.
7. Un medicamento para uso en la prevención, mejora y/o tratamiento del trastorno de ansiedad y trastorno del sueño, caracterizado porque dicho medicamento consiste en albiflorina y un portador farmacéuticamente aceptable.
- 25 8. Un alimento para el cuidado de la salud para uso en la prevención, la mejora y/o el tratamiento del trastorno de ansiedad y el trastorno del sueño, caracterizado porque el alimento para el cuidado de la salud consiste en albiflorina y un portador farmacéuticamente aceptable.