



SCHWEIZERISCHE Eidgenossenschaft
EIDGENÖSSISCHES INSTITUT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

(11) **CH** **702 736 B1**

(51) Int. Cl.: **A61K** **9/127** (2006.01)

Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein

Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978

(12) PATENTSCHRIFT

(21) Anmeldenummer: 01071/11

(22) Anmeldedatum: 31.12.2008

(43) Anmeldung veröffentlicht: 08.07.2010

(24) Patent erteilt: 14.12.2012

(45) Patentschrift veröffentlicht: 14.12.2012

(73) Inhaber:
Obschestvo s Organichennoi Otvetstvennostju Scientific
Company Flamená, ul. Gagarina, 2
Reutov, Moskovskaya obl., 143966 (RU)

(72) Erfinder:
Aleksej Mikhajlovich Grigor'ev, Moscow, 127474 (RU)
Anton Vladimirovich Evteev,
Reutov, Balashihinskij r-n, Moskovskaya obl., 143966 (RU)
Andrej Petrovic Smyslov, Moscow 125299 (RU)
Pjotr Andreevich Smyslov, Moscow 125299 (RU)
Maksim Vjacheslavovich Cvetkovic,
Reutov, Balashihinskij r-n, Moskovskaya obl., 143966 (RU)

(74) Vertreter:
Keller & Partner Patentanwälte AG, Schmiedenplatz 5
Postfach
3000 Bern 7 (CH)

(86) Internationale Anmeldung:
PCT/RU 2008/000819

(87) Internationale Veröffentlichung:
WO 2010/077165

(54) Phospholipid-Emulsion, die Dihydroquerzetin beinhaltet.

(57) Die vorliegende Erfindung gehört zum Gebiet der Chemie, der Lebensmittelindustrie, Kosmetik- und Pharmaindustrie. Insbesondere ist die Erfindung liposomal biologisch aktiven Formen sowie Methoden zu ihrer Gewinnung zuzuordnen. Die vorliegende Erfindung stellt eine stabile Phospholipid-Emulsion auf der Basis von Dihydroquerzetin (DHQ) bereit. Ausserdem wird eine einfache und wirtschaftliche Methode zur Herstellung einer solchen Emulsion beschrieben. Die offenbarte Emulsion zeichnet sich durch eine verbesserte Bioverfügbarkeit und Selektivität der Wirkung der aktiven Verbindungen aus sowie auch durch die erhöhte Stabilität und verlängerte Lagerzeit.

Das beanspruchte Ergebnis wird erreicht durch das Bereitstellen einer Phospholipid-Emulsion mit Dihydroquerzetin (DHQ), mindestens einem membranbildenden Phospholipid (MPL), mindestens einer zwitterionischen Aminosäure, optional einem Aminoessigether, und einer wässrigen Ethanol-Lösung mit der folgenden Zusammensetzung in Gew.-%: Dihydroquerzetin 0,01–3%; Phospholipid 0,15–10%; zwitterionische Aminosäure bis zu 8%; Aminoessigether 0–4%; wässrige Ethanol-Lösung (mit einer Ethanol-Konzentration zwischen 0,05–20%) 75–98,84%.

Beschreibung

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft eine Phospholipid-Emulsion, die Dihydroquerzetin (DHQ), mindestens ein membranbildendes Phospholipid (MPL), zumindest eine zwitterionische Aminosäure, optional einen Aminoessigether, eine wässrige Ethanol-Lösung beinhaltet, wobei in der Phospholipid-Emulsion Liposome vorliegen. Zudem betrifft die Erfindung eine Methode zur Herstellung dieser Emulsion.

[0002] Die vorliegende Erfindung gehört zum Gebiet der Chemie, der Lebensmittelindustrie, der Kosmetik- und Pharmaindustrie. Insbesondere betrifft sie liposomale biologisch aktive Formen sowie Methoden zu ihrer Gewinnung.

[0003] Auf diesem Gebiet sind viele aktive Stoffe bekannt, die im Wasser schwer löslich oder überhaupt nicht löslich sind. Um sie praktisch verwenden zu können, müssen Methoden und Mittel zur Beförderung hydrophober Wirkstoffe in wasserhaltige Medien entwickelt werden. Es wurden unterschiedliche Trägersysteme ausgearbeitet, darunter Mischungen aus Wasser und organischen Lösungsmitteln, die Einkapselung, die Nutzung von Emulsionen, Suspensionen, Liposomen und Mizellen. Jedes der erwähnten Systeme weist eine Reihe von Beschränkungen auf, die mit dem Koeffizienten zur Erfassung des Wirkstoffs, der Stabilität dieses Wirkstoffs im System, der Lebensdauer des Systems, der Selektivität des Wirkstoffs usw. zusammenhängen.

[0004] Im US-Patent 4 776 991 (Farmer et al.) ist beispielsweise eine breite Einkapselung von Hämoglobin beschrieben worden, wobei hydrophobe Substanzen in Liposomen verwendet werden. Das US-Patent 5 010 073 (Kappas et al.) beschreibt die Herstellung von Liposomen, in denen Metalloporphyrine mit Phosphatidylcholin aus Eiern, das als Lipid-Komponente fungiert, enthalten sind. Das US-Patent 5 922 355 (Parikh et al.) beschreibt Mikropartikel, in denen sich unlösliche Stoffe befinden. Lasic (Nature, vol. 355, pp. 379–380 (1992)) beschreibt die Verwendung aggregierter Mizellen, die ein Arzneimittel sowie biologische Lipide beinhalten.

[0005] Auf ähnliche Weise wurden Mizellen für die Zuführung von Arzneimitteln bei der Behandlung von Patienten angewandt (Brodin et al., Acta Pharm. Seuc. 19, 267–284); Mizellen wurden ebenfalls zur zielgerichteten Zuführung von Arzneimitteln genutzt (Supersaxo et al., Pharm. Res. 8:1286–1291 (1991)), einschliesslich der selektiven Zuführung von Anti-Tumor-Mitteln [(Fung et al., Biomater. Artif. Cells. Artif. Organs 16:439 et. seq. (1988) & Yokoyama et al., Cancer Res. 51:3229–3236 (1991)].

[0006] Im US-Patent 6 984 395 (Bok R.D. et al.) wird eine phospholipide Zusammensetzung mit hydrophoben Photosensibilisatoren beansprucht. Diese Zusammensetzung kann zu einem stabilen liposomen Produkt verarbeitet werden, das man durch Ultra-Filtration sterilisieren, für die Lagerung lyophilisieren und dann unmittelbar vor einer Applikation in einem wässrigen Medium zügig auflösen kann. Obwohl es gelungen ist, einige Probleme bezüglich der Stabilität und der Wirksamkeit der Zusammensetzung zu lösen, bleibt diese Herstellungstechnologie kompliziert; zusätzliche Schritte und spezielle Bedingungen sind für die Lagerung und die Bereitstellung des Produktes unmittelbar vor der Applikation notwendig.

[0007] Die vorliegende Erfindung stellt eine stabile Phospholipid-Emulsion auf der Basis von Dihydroquerzetin (DHQ) bereit. Ausserdem wird eine einfache und wirtschaftliche Methode zur Herstellung einer solchen Emulsion beschrieben. Die offenbarte Emulsion zeichnet sich durch eine verbesserte Bioverfügbarkeit und Selektivität der Wirkung der aktiven Verbindungen aus sowie auch durch die erhöhte Stabilität und verlängerte Lagerzeit.

[0008] Das beanspruchte Ergebnis wird erreicht durch das Bereitstellen einer Phospholipid-Emulsion mit Dihydroquerzetin (DHQ), mindestens einem membranbildenden Phospholipid (MPL), mindestens einer zwitterionischen Aminosäure, einem Aminoessigether und einer wässrigen Ethanol-Lösung mit der folgenden Zusammensetzung in Gew.-%: Dihydroquerzetin 0,01–3%; Phospholipid 0,15–10%; zwitterionische Aminosäure bis zu 8%; optional Aminoessigether 0–4%; wässrige Ethanol-Lösung (mit einer Ethanol-Konzentration zwischen 0,05–20%) 75–98,84%.

[0009] Die Wirkung der Emulsion wird durch die Eigenschaften der Phospholipide und des Dihydroquerzetins sowie anderer biologisch aktiver Stoffe, die im Liposom enthalten sind, bestimmt. Jede Komponente erfüllt dabei ihre eigene Funktion, ergänzt natürlich die Eigenschaften der anderen Komponenten und zeigt eine synergistische Wirkung.

[0010] Dihydroquerzetin gehört zur Gruppe der Flavonoide, einer Substanzgruppe, die gefässschützende, regenerierende, entgiftende, antiödematöse und antioxidative Wirkung zeigt. Dihydroquerzetin beugt der vorzeitigen Alterung der Zellen und der Entwicklung verschiedener Erkrankungen vor; es stärkt Gefässwände, verbessert die Mikrozirkulation, unterdrückt Entzündungsprozesse und Ödembildung, verbessert das Hautbild, normalisiert die Synthese von Kollagen/Elastin in der Haut usw.

[0011] Die grösste Schwierigkeit bei der Anwendung von Dihydroquerzetin als biologisch aktiver Stoff besteht in der Zuführung des Präparats an den gewünschten Ort im Organismus. Dihydroquerzetin ist in Wasser schwer löslich und zudem empfindlich gegenüber Metallionen. Infolgedessen ist eine Verabreichung über eine Injektion nahezu unmöglich, während bei der peroralen Verabreichung ein Verlust der Aktivität beim Passieren des Magen-Darm-Trakts eintritt.

[0012] Phospholipide sind die wichtigsten Strukturkomponenten aller Zellmembranen des Organismus. Zu den Phospholipiden gehören insbesondere Phosphatidylcholin (PC), Phosphatidylethanolamin (PE), Phosphatidylglyzerin (PG), Phosphatidylinositol (PI) und 1,3-Diphosphatidylglyzerin (Kardiolipin).

[0013] Durch die einzigartigen oberflächenaktiven Eigenschaften der Phospholipide ist es möglich, mit Präparaten, in denen sie enthalten sind, zerstörte Membranabschnitte wiederherzustellen und auf diese Weise die Entwicklung der strukturellen Pathologien von Zellen zu verhindern. Diese Therapie erhöht die osmotische Resistenz der Zellen, darunter auch die der Erythrozyten, was als Beweis für eine «Verjüngung» der Zellen gilt. In der Tat werden die Zellenwände elastischer, was für junge Zellen charakteristisch ist.

[0014] Trotz der positiven Eigenschaften der Phospholipide existiert eine Reihe objektiver Gründe, die ihre Verwendung erschwert. Dazu gehören die geringe Wasserlöslichkeit, die Empfindlichkeit gegenüber einer Veränderung des pH-Wertes und die hohe Reaktivität, einschliesslich der Oxidierbarkeit, was zu Problemen bei der Verabreichung führt sowie erhöhte Anforderungen an die Bedingungen der Lagerung und der Nutzung stellt.

[0015] Die Zugabe von Aminosäuren in die Emulsion in Übereinstimmung mit der vorliegenden Erfindung bewirkt neben den bekannten positiven biologischen Effekten zusätzlich die Stabilität rheologischer Parameter der Emulsion und verhindert so ihre vorzeitige Phasentrennung. Die Stabilität der Emulsion wird durch die zwitterionischen Eigenschaften der Aminosäure-Moleküle gewährleistet. In einer bevorzugten Ausführungsform handelt es sich bei der Aminosäure um Glyzin, doch können auch andere Aminosäuren wie Glutamin, Asparagin, Alanin, Valin, Histidin, Serin, Isoleucin, Threonin, Prolin, Cystein, Lysin, Tyrosin, Phenylalanin, Arginin, Methionin, Tryptophan, Asparginsäure, Glutaminsäure, Leucin und ihre Derivate zur Anwendung kommen.

[0016] Um der Emulsion zusätzliche biologische Eigenschaften zu verleihen, die eine konkrete Anwendung erfordert, können ihr verschiedene biologisch aktive Stoffe zugefügt werden, z.B. Polyensäuren, Enzyme (einschliesslich ihrer Vorstufen und Derivate), Antioxidantien, Vitamine und deren Derivate, Mineralien, UV-Filter, Konservierungsmittel, Farbstoffe, Aromastoffe und Verdickungsmittel (in einer Gesamtmenge von höchstens 6%).

[0017] In einer bevorzugten Ausführungsform ist die Polyensäure aus der folgenden Gruppe ausgewählt: Linolensäure, γ -Linolensäure, Dihomo- γ -Linolensäure, Arachidonsäure oder deren Mischung, während als Vitamin mindestens eines der Vitamine A, E oder C vorliegt. Als Antioxidantien werden bevorzugt α -Tocopherol, Ubichinon oder Stoffe aus der Gruppe der Bioflavonoide eingesetzt; als bevorzugtes Enzym wird 5,6-Desaturase verwendet; als mehrfach ungesättigte Fettsäuren kommt eine Mischung aus C18:2 und C18:3 im Verhältnis 1:1 (Mol/ml) zur Anwendung. Die Emulsion kann auch bis 3% Hyaluronsäure als Befeuchtungsmittel enthalten.

[0018] Die Grösse der Liposome in der Emulsion liegt im Bereich zwischen 20 bis 500 nm und ist abhängig von den Bedingungen, unter denen die Emulsion zubereitet wird. In jedem Fall kann man dabei eine hohe Homogenität der Emulsion bezüglich der Partikelgrösse erreichen. In den am meisten gebrauchten Emulsionen weisen etwa 70% der Liposome eine Grösse im Bereich zwischen 20 und 100 nm auf.

[0019] Die liposomale Anordnung der biologisch aktiven Stoffe gewährleistet die Zuführung der Wirkstoffe zu den gewünschten Organen und dem Gewebe, ermöglicht es der Emulsion, ihre Eigenschaften während der Lagerung unter Normalbedingungen zu erhalten und erhöht ihre Oxidationsstabilität. Die Emulsion bewahrt ihre Zusammensetzung und ihre Eigenschaften über einen breiten Bereich des pH-Werts von 3,0 bis 10,0 und verträgt das Erwärmen auf 65 °C für ca. eine Stunde.

[0020] Die Einführung von Dihydroquercetin in die Zusammensetzung der Liposome weist eine Doppelwirkung auf:

- (i) einerseits stellt das Dihydroquercetin eine aktive biologische Wirkung der Liposome sicher;
- (ii) andererseits schützt das Dihydroquercetin, das ein starkes Antioxidans ist, die Phospholipide in den Liposomen gegen Oxidation und sichert die strukturelle Stabilität der Lipid-Doppelschicht. Die Ursache liegt hier in den Besonderheiten des Einschlusses von Dihydroquercetin in Liposomen. Wenn die Emulsion nach dem beanspruchten Verfahren hergestellt wird, reagiert das Dihydroquercetin in eine chemische Reaktion mit den Molekülen des Phospholipids und wird in die Lipid-Doppelschicht integriert. Aus diesem Grund wird der Gehalt des aktiven Stoffes in den Liposomen durch die molaren Verhältnisse der Ausgangskomponenten bestimmt, und nicht durch den Koeffizienten der Aufnahme des Wirkstoffs.

[0021] Die Methode zur Herstellung der Phospholipid-Emulsion gemäss der Erfindung umfasst:

- (i) die Herstellung eines Extrakts, enthaltend eine Lösung des Dihydroquercetins und mindestens eines Phospholipids in Ethanol und ein Dispersionsmedium, welches deionisiertes Wasser enthält;
- (ii) das Rühren des Dispersionsmediums, bis sich in ihm ein stabiler Wirbel (ein Paraboloid der Drehung bzw. ein Luft-Trichter) bildet;
- (iii) die Zugabe des Extrakts in den Wirbel;
- (iv) die Trennung der erhaltenen Mischung in ein Konzentrat der Dispersionsphase (Liposome) und das Dispersionsmedium im Verhältnis von 1:2 bis 15;
- (v) die Zugabe der wässrigen Lösung der mindestens einen zwitterionischen Aminosäure zum Konzentrat.

[0022] Bei der Herstellung des Extrakts (Dispersionsphase) werden der Ethanol-Lösung der Phospholipide jene alkohol-löslichen biologisch aktiven Stoffe zugefügt, die im Wasser schwer löslich sind (beispielsweise Dihydroquercetin, Polyensäuren usw.) und imstande sind, mit der zwitterionischen Basis eines bestimmten Phospholipids zu interagieren, entweder unmittelbar oder über einen wasserlöslichen Vermittler wie Glyzin, der ebenfalls eine zwitterionische Basis aufweist.

[0023] Die vorgeschlagene Methode entspricht dem Injektionsverfahren zur Herstellung von Liposomen, bei dem eine Dispersionsphase (Alkoholextrakt) unter Druck in ein Dispersionsmedium injiziert wird. Jedoch berücksichtigt die vorge-

schlagene Methode die hydrodynamischen Eigenschaften des Dispersionsmediums, wenn es gerührt wird. Das Rühren führt zur Bildung eines trichterförmigen Wirbels, der über dem Rührer zentriert ist. Bei einer hinreichend hohen Drehzahl entsteht eine dünne Schicht des wässrigen Dispersionsmediums. In diese Schicht wird die Dispersionsphase über eine dünne Kapillare eingespritzt. Die Bildung der Liposome erfolgt in einer dünnen Schicht über dem Rührer. Durch die Zentrifugalkraft werden die erzeugten Liposome sofort über das ganze Volumen der Flüssigkeit verteilt. Auf diese Weise können Liposome bei relativ geringen Drehzahlen des Rotors von 700–1500 Umdrehungen pro Minute erhalten werden.

[0024] Für die Herstellung einiger kosmetischer Präparate ist es gelegentlich erforderlich, das Lösungsmittel (Ethanol) aus dem Endprodukt zu entfernen, die rheologischen Eigenschaften der Zubereitung zu stabilisieren und die Phasentrennung der Suspension auszuschliessen. Im Rahmen der offenbarten Methode lassen sich diese Aufgaben leicht lösen durch den Austausch des Dispersionsmediums (wässrige Ethanol-Lösung mit einem geringen Gehalt an kleinsten Fraktionen) durch eine wässrige Glyzin-Lösung nach dem Stehenlassen der Stammlösung. Durch Re-Suspension erhält man eine stabile Lösung, die der Phasentrennung gegenüber stabil ist. Unter zertifizierten Lagerungsbedingungen behält das Präparat seine Eigenschaften für mehrere Monate (bis zu einem Jahr).

[0025] Die allgemeine Beschreibung der vorliegenden Erfindung wurde vorgenommen. Die folgenden praktischen Beispiele sollen die Erfindung illustrieren, sie jedoch nicht beschränken.

Beispiel 1.

[0026] Für die Herstellung eines Liters der Phospholipid-Emulsion mit der Handelsbezeichnung «Flamena D» werden 200 ml des Extraktes auf folgende Weise zubereitet:

[0027] Zu einer Lösung aus 4 g Dihydroquercetin (Reinheitsgrad 94–96%) in 166 ml Ethanol (96%o) wird bevorzugt Ei-Lecithin mit einem Phosphatdylcholin Gehalt von nicht weniger als 80% gegeben. Das Gemisch wird so lange gerührt, bis sich das Lecithin vollständig gelöst hat. Um das Auflösen zu erleichtern, sollte die Mischung auf eine Temperatur von 50 °C erwärmt werden. Die hergestellte Lösung kann bei Zimmertemperatur für mehrere Tage aufbewahrt werden.

[0028] Als Dispersionsmedium wird destilliertes deionisiertes Wasser (0,5 Mikrosiemens) verwendet. Das gleiche Wasser wird für die Zubereitung einer 5%igen Glyzin-Lösung benutzt. Das Dispersionsmedium wird in einem Gefäss mit einem Volumen von bis zu 2 Litern mit einem Magnetrührer gerührt. Die Drehzahl des Magnetrührers wird allmählich auf 700–1000 Umdrehungen pro Minute erhöht. Die Stärke der Flüssigkeitsschicht im Zentrum des entstehenden trichterförmigen Wirbels darf 10 mm nicht übersteigen. An diese Stelle wird der Extrakt zugeführt. Die Geschwindigkeit der Zuführung des Extrakts muss gleichmässig sein und 3 bis 4 ml/sec betragen.

[0029] Nach Abschalten des Magnetrührers und dem Stehenlassen der Mischung wird sie mit einer Glyzin-Lösung versetzt, so dass das Volumen der Emulsion 2000 ml beträgt.

[0030] In einem anderen Beispiel wird die Mischung in Phasen getrennt, beispielsweise durch das Stehenlassen während 24 Stunden bei einer reduzierten Temperatur (höchstens 10 °C). Als Ergebnis werden zwei Phasen erhalten: die untere weiss-trübe Phase, die 25–28% des Volumens ausmacht, und die überstehende halbttransparente Phase. Die obere Phase wird abdekantiert, die untere Phase wird mit der 5%igen Glyzin-Lösung auf ein Volumen von 2000 ml aufgefüllt. Dann wird das Produkt gerührt und in Behälter zur Lagerung und Verwendung gefüllt.

[0031] Die auf diese Weise hergestellte Phospholipid-Emulsion wurde als kosmetisches Mittel zur Beschleunigung der Hautregeneration, zur Verbesserung der subkutanen Durchblutung, zur Stabilisierung von Austauschprozessen usw. getestet. Festgestellt wurden eine spürbare Beschleunigung von Heilungsprozessen in der Haut und ein verbesserter Zustand der Haut in allen genannten Punkten im Vergleich zu der Kontrollgruppe, bei der dieses Mittel nicht angewendet wurde.

[0032] Eine Reihe von Untersuchungen wurde durchgeführt, um die Wirkung der Phospholipid-Emulsion auf die Heilung von Wunden und Verbrennungen unter experimentellen Bedingungen in vivo zu testen. Die Experimente wurden an weissen männlichen Ratten vorgenommen. Die Emulsion wurde auf künstliche Wunden mit aseptischer Entzündung aufgetragen. Diese Wunden wurden auf enthaarten Bereichen auf dem Rücken der Tiere unter Ether-Narkose erzeugt. Wunden mit nichteitriger (aseptischer) Entzündung wurden durch einen vollschichtigen Hautabschnitt bis zur entsprechenden Faszie mit einem Durchmesser bis 2,5 cm geformt. Anschliessend wurden die Wunden behandelt, wobei Verbandsmittel unterschiedlicher Zusammensetzung verwendet wurden. Abhängig von der Verbandsart, die zwecks der Behandlung der Wunden angewandt worden war, teilte man die Tiere in drei Gruppen auf:

- (1) Mullverband mit Emulsion «Flamena» (erste Versuchsgruppe);
- (2) Mullverband mit Dihydroquercetin-Lösung (zweite Versuchsgruppe);
- (2) Mullverband mit physiologischer Kochsalzlösung (Kontrollgruppe).

[0033] Der Verlauf der Wundheilung wurde auf Grund folgender Kriterien überwacht:

1) Ergebnisse der klinischen Untersuchung des Charakters der Wundheilung, einschliesslich:

- Anwesenheit oder Fehlen eines Ödems an den Rändern und am Gewebe der Wunde, Hyperämie, Schmerzempfinden bei Manipulationen;
- Anwesenheit oder Fehlen nekrotischer Detritus und des wundenbezogenen Exsudats an der Oberfläche der Wunden;

– Anzeichen der Wundreinigung von der eitrig-nekrotischen Detritis, Rückgang der Entzündung, Entstehung und Wachstum des Granulationsgewebes, Beginn der Epithelisierung.

2) Objektive klinische Kriterien bei der Bewertung des Wundheilungsverlaufs:

- planimetrische Messungen zur Beurteilung einer Abnahme der Wundfläche;
- dynamische morphologische Analyse von Biopaten der Wunden der Versuchstiere;
- Ergebnisse der mikrobiologischen Analyse.

[0034] Basierend auf einer Analyse der Ergebnisse der klinischen Beobachtung des Wundheilungsverlaufs von Experimentalwunden und der Wirksamkeit des Verbandsmaterials mit der Emulsion «Flamena D» und mit Dihydroquerzetin ist Folgendes festgestellt worden.

1. Im Vergleich übt die Emulsion «Flamena D» einen günstigeren Einfluss auf den Wundheilungsverlauf im Vergleich zur Dihydroquerzetin-Lösung und der Kontrollgruppe aus, was sich durch eine lediglich unwesentliche Entzündung in einem frühen Stadium der Wundheilung manifestiert.

2. Die klinischen Daten zeigen zuverlässig die günstige Wirkung des Präparats «Flamena D» auf die Angiogenese bei allen Kriterien zur Beobachtung der Experimentalwunden.

3. Eine Analyse der Behandlungsergebnisse der vollschichtigen Experimentalhautwunden zeigt, dass das Präparat «Flamena D» eine ausgeprägte entzündungshemmende und stimulierende Wirkung auf die Angiogenese und das Wachstum des Granulationsgewebes hat, was seine Effizienz im Hinblick auf die Hemmung des Entzündungsprozesses, die Entwicklung regenerativer Prozesse und die Dynamik einer Verringerung des Wunddefekts gewährleistet.

[0035] Die durchgeführte morphologische Untersuchung bewies auch die Effizienz der Anwendung der Emulsion «Flamena D» bei der Behandlung von Hautwunden. Die Wundendeckung ist besonders effizient gegen Ende der I. Etappe und zu Beginn der II. Etappe der Wundheilung (2–5 Tage). Die Emulsion «Flamena D» regt die Prozesse der Angiogenese und der Proliferation von Fibroblasten viel wirksamer an als die Wundenbedeckung mit Dihydroquerzetin, sowohl in Bezug auf morphologische Angaben wie auch quantitative Analyse. Dank der Anwendung der Emulsion «Flamena D» war der Grad der Reife des Granulationsgewebes am 5. Tag der Wundbehandlung wesentlich höher als bei der Behandlung der Wunden mit Dihydroquerzetin.

[0036] Bei in vivo-Experimenten wurde auch die Wirkung der Emulsion «Flamena D» bei der Behandlung chemischer und thermischer Brandwunden untersucht. Zu diesem Zweck wurden nach einer Depilation auf der Haut von Tieren chemische und thermische Verbrennungen 2. Grades unter Ether-Narkose erzeugt. Anschliessend wurden die Verbrennungen der Tiere durch periodische Anwendung der Emulsion «Flamena D» behandelt. Für die Kontrollgruppe kam zum Vergleich die physiologische Kochsalzlösung zur Anwendung. Die Wirksamkeit der Behandlung mit der Emulsion «Flamena D» wurde nach den Ergebnissen der morphologischen und histologischen Untersuchungen bewertet. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen zeigen eine wesentliche Beschleunigung der Heilung von Brandwunden bei Tieren. Darüber hinaus bewirkt diese Behandlung auch einen günstigen Verlauf von Prozessen der Haut-Regeneration, was sich im Ausbleiben der Narbe und in der schnelleren Wiederherstellung der Behaarung zeigt.

Patentansprüche

1. Phospholipid-Emulsion, die
0,01–3 Gew.-% Dihydroquerzetin (DHQ),
0,15–10 Gew.-% mindestens eines membranbildenden Phospholipids (MPL),
bis zu 8 Gew.-% zumindest einer zwitterionischen Aminosäure,
optional 0–4 Gew.-% eines Aminoessigethers,
75–98,84 Gew.-% einer wässrigen Ethanol-Lösung mit einer Ethanol-Konzentration zwischen 0,05–20%
beinhaltet, wobei in der Phospholipid-Emulsion Liposome vorliegen.
2. Phospholipid-Emulsion nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass das Dihydroquerzetin in Liposomen-Wänden enthalten ist.
3. Phospholipid-Emulsion nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass das Phospholipid aus der Gruppe umfassend Phosphatidylcholin (PC), Phosphatidylethanolamin (PE), Phosphatidylglyzerin (PG), Phosphatidylinositol (PI), Diphosphatidylglyzerin (Kardiopipin) oder ihren Mischungen ausgewählt ist.
4. Phospholipid-Emulsion nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die zwitterionische Aminosäure aus der Gruppe Glyzin, Glutamin, Asparagin, Alanin, Valin, Histidin, Serin, Isoleucin, Threonin, Prolin, Cystein, Lysin, Tyrosin, Phenylalanin, Arginin, Methionin, Tryptophan, Asparginsäure, Glutaminsäure oder Leucin stammt.
5. Phospholipid-Emulsion nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass sie zusätzlich bis zu 6% Stoffe enthält, die aus der folgenden Gruppe ausgewählt worden sind: Polyensäuren, Enzyme, Antioxidantien, Vitamine, Mineralien, UV-Filter, Konservierungsmittel, Farbstoffe, Aromastoffe und Verdickungsmittel.
6. Phospholipid-Emulsion nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, dass die Polyensäure aus der folgenden Gruppe ausgewählt worden ist: Linolensäure, γ -Linolensäure, Dihomo- γ -Linolensäure, Arachidonsäure oder deren Mischung.
7. Phospholipid-Emulsion nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, dass als Vitamine die Vitamine aus der Gruppe A, B, C, E, K, F, D genutzt werden.

8. Phospholipid-Emulsion nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, dass die Antioxidantien Substanzen aus der Gruppe α -Tocopherol, Ubichinon, oder Stoffe aus der Gruppe der Bioflavonoide sind.
9. Phospholipid-Emulsion nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, dass es sich bei dem Enzym um 5,6-Desaturase handelt.
10. Phospholipid-Emulsion nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, dass sie zusätzlich ein Gemisch aus mehrfach ungesättigten Fettsäuren C18:2 und C18:3 im Verhältnis 1:1 (Mol/ml) enthält.
11. Phospholipid-Emulsion nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass sie zusätzlich bis zu 3% Hyaluronsäure enthält.
12. Phospholipid-Emulsion nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Grösse der Liposomen im Bereich zwischen 20 bis 500 nm liegt.
13. Phospholipid-Emulsion nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass etwa 70% der Liposome eine Grösse zwischen 20 und 100 nm aufweisen.
14. Phospholipid-Emulsion nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass ihr pH-Wert im Bereich 3.0–10.0 liegt.
15. Methode zur Herstellung einer Phospholipid-Emulsion nach einem der Ansprüche 1 bis 14 umfassend:
 - (i) die Herstellung eines Extrakts, enthaltend eine Lösung des Dihydroquercetins und mindestens eines Phospholipids in Ethanol und ein Dispersionsmedium, welches deionisiertes Wasser enthält;
 - (ii) das Rühren des Dispersionsmediums, bis sich in ihm ein stabiler Wirbel bildet;
 - (iii) die Zugabe des Extrakts in den Wirbel;
 - (iv) die Trennung der erhaltenen Mischung in ein Konzentrat der Dispersionsphase und ein Dispersionsmedium im Verhältnis von 1:2 bis 15;
 - (v) die Zugabe der wässrigen Lösung der mindestens einen zwitterionischen Aminosäure zum Konzentrat.
16. Methode zur Herstellung einer Phospholipid-Emulsion nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, dass das Dispersionsmedium Aminoessigether enthält.
17. Methode zur Herstellung einer Phospholipid-Emulsion nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, dass das Dispersionsmedium durch einen Magnetrührer mit einer Rotationsgeschwindigkeit von 700 bis 1500 Umdrehungen pro Minute gerührt wird.
18. Methode zur Herstellung einer Phospholipid-Emulsion nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, dass der Extrakt in das Zentrum des Wirbels zugegeben wird.
19. Methode zur Herstellung einer Phospholipid-Emulsion nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, dass die nach Zugabe des Extrakts erhaltene Mischung bei einer Temperatur von 0 bis 20 °C stehengelassen wird.
20. Methode zur Herstellung einer Phospholipid-Emulsion nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, dass die nach Zugabe des Extrakts erhaltene Mischung durch Phasentrennung konzentriert wird.