

(19) 中华人民共和国国家知识产权局



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104189043 A

(43) 申请公布日 2014. 12. 10

(21) 申请号 201410378585. 0

A61K 131/00(2006. 01)

(22) 申请日 2008. 12. 23

(30) 优先权数据

102007063115. 6 2007. 12. 23 DE

102008039271. 5 2008. 08. 23 DE

(62) 分案原申请数据

200880125479. 4 2008. 12. 23

(71) 申请人 欧洲地中海股份有限公司

地址 西班牙摩勒山谷

(72) 发明人 A·纳戈尔 J·X·阿圭热

S·R·普尔斯

(74) 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专

利商标事务所 11038

代理人 徐达

(51) Int. Cl.

A61K 36/28(2006. 01)

A61P 1/16(2006. 01)

A61P 39/02(2006. 01)

A61P 31/14(2006. 01)

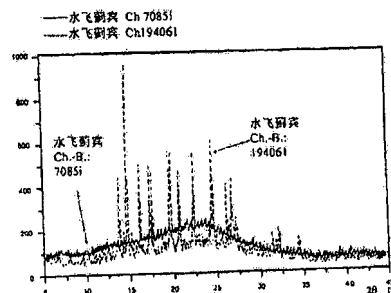
权利要求书2页 说明书6页 附图2页

(54) 发明名称

新的水飞蓟提取物、制备方法和应用

(57) 摘要

本发明涉及制备水飞蓟果实提取物的方法，特别是具有提高的释放率和提高的吸收性能的黄酮木脂体制剂，及其应用，特别是用于肝脏疾病的治疗和预防。



Ch-B.—批次描述

1. 制备具有 80% 或更高的水飞蓟素释放率的水飞蓟果实提取物的方法, 其特征在于, 将含有 15-85 重量% 水飞蓟素的提取物纳入无水的醇中, 任选地进行过滤和浓缩, 然后进行干燥, 并任选地粉碎。

2. 权利要求 1 所述的制备具有 80% 或更高的水飞蓟素释放率的水飞蓟果实提取物的方法, 其特征在于, 将含有 30-65 重量% 水飞蓟素的提取物纳入无水的醇中。

3. 制备具有 80% 或更高的水飞蓟素释放率的水飞蓟果实提取物的方法, 其特征在于
a.) 使用中等极性的溶剂提取植物药材, 其中所述中等极性的溶剂选自乙酸乙酯、乙醇、甲醇或丙酮,

b.) 进行分离,

c.) 进行浓缩, 和 c') 任选地用热水洗涤,

d.) 混入乙醇, 然后混入己烷并进行浓缩, 分离出得到的乙醇 - 水相,

e.) 进行干燥, 并任选地进行粉碎,

f.) 纳入无水的醇中,

g.) 任选地进行过滤和浓缩, 和

h.) 进行干燥, 并任选地进行粉碎。

4. 权利要求 3 所述的制备具有 80% 或更高的水飞蓟素释放率的水飞蓟果实提取物的方法, 其特征在于, 在步骤 a.) 中提取在 40-80 摄氏度进行。

5. 权利要求 4 所述的制备具有 80% 或更高的水飞蓟素释放率的水飞蓟果实提取物的方法, 其特征在于, 在步骤 a.) 中提取在 50-70 摄氏度进行。

6. 权利要求 3 所述的制备具有 80% 或更高的水飞蓟素释放率的水飞蓟果实提取物的方法, 其特征在于, 在步骤 b.) 中所述分离为过滤。

7. 权利要求 3 所述的制备具有 80% 或更高的水飞蓟素释放率的水飞蓟果实提取物的方法, 其特征在于, 在步骤 c.) 中所述浓缩在真空搅拌下在低于 60 摄氏度的温度下进行。

8. 权利要求 7 所述的制备具有 80% 或更高的水飞蓟素释放率的水飞蓟果实提取物的方法, 其特征在于, 在步骤 c.) 中所述温度低于 40 摄氏度。

9. 权利要求 3 所述的制备具有 80% 或更高的水飞蓟素释放率的水飞蓟果实提取物的方法, 其特征在于, 在步骤 d.) 中所述乙醇是 96% 或更高浓度的乙醇。

10. 权利要求 3 所述的制备具有 80% 或更高的水飞蓟素释放率的水飞蓟果实提取物的方法, 其特征在于, 在步骤 d.) 中所述浓缩在 1-100 毫巴的压力下进行。

11. 权利要求 3 所述的制备具有 80% 或更高的水飞蓟素释放率的水飞蓟果实提取物的方法, 其特征在于, 步骤 f.) 中所述无水的醇是无水的 C1-C4 醇。

12. 权利要求 11 所述的制备具有 80% 或更高的水飞蓟素释放率的水飞蓟果实提取物的方法, 其特征在于, 步骤 f.) 中所述的 C1-C4 醇是乙醇。

13. 权利要求 3 所述的制备具有 80% 或更高的水飞蓟素释放率的水飞蓟果实提取物的方法, 其特征在于, 在步骤 a.) 中所述中等极性的溶剂选自乙酸乙酯、乙醇或甲醇。

14. 权利要求 13 所述的制备具有 80% 或更高的水飞蓟素释放率的水飞蓟果实提取物的方法, 其特征在于, 所述中等极性的溶剂是乙酸乙酯。

15. 由权利要求 1 到 14 之一所述的方法得到的水飞蓟果实提取物。

16. 权利要求 15 所述的水飞蓟果实提取物, 其中所述水飞蓟果实提取物基本上由无定

形的晶体变型组成。

17. 权利要求 15 或 16 所述的水飞蓟果实提取物,其中所述水飞蓟果实提取物由无定形的晶体变型组成,其中晶体份额少于 20%。

18. 权利要求 17 所述的水飞蓟果实提取物,其中晶体份额少于 10%。

19. 权利要求 18 所述的水飞蓟果实提取物,其中晶体份额少于 7%。

20. 权利要求 15 或 16 所述的水飞蓟果实提取物,用于治疗 and 预防肝和胆囊功能障碍。

21. 权利要求 15 或 16 所述的水飞蓟果实提取物,用于治疗 and 预防中毒性肝损伤和肝功能病。

22. 权利要求 15 或 16 所述的水飞蓟果实提取物,用于治疗 and 预防脂肪肝、酒精肝,毒覃中毒,急性肝功能衰竭,肝坏死,肝萎缩,肝硬化,肝纤维化,肝肿大和肝脂肪变性,肝功能不全和肝炎。

23. 权利要求 15 或 16 所述的水飞蓟果实提取物,用于治疗 and 预防丙肝。

24. 含有权利要求 20 至 23 中任一所述的水飞蓟果实提取物的药物制剂。

新的水飞蓟提取物、制备方法和应用

[0001] 本申请是母案为中国发明专利申请 200880125479.4 的分案申请。

[0002] 本发明涉及一种制备水飞蓟果实提取物的方法,特别是一种具有提高的释放率和提高的吸收性能的黄酮木脂体制剂,及其应用,特别是用于肝脏疾病的治疗和预防。

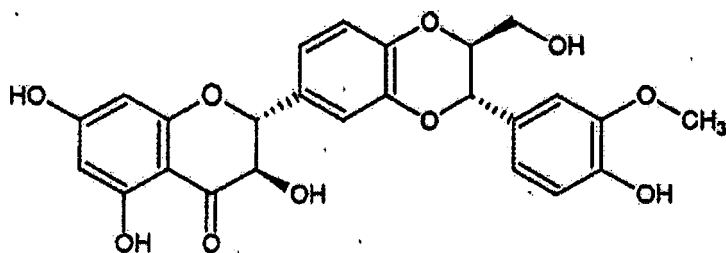
[0003] 水飞蓟(水飞雉、奶蓟或老鼠簕)是一种特别是栽培于欧洲西南部和中部(奥地利、匈牙利)的植物,并且已经被移植到欧亚大陆、北美、南美和澳大利亚。在中国也有产区。

[0004] 药材水飞蓟(种子和果实)对于治疗和预防各种形式的肝和胆囊功能障碍的功效是已知的。这种药材由去除冠毛的成熟果实构成,水飞蓟素的最低含量为 1.5%(欧洲药典(Pharmacopoea Europaea)(Ph. Eur.),2007)。早在古代就已知水飞蓟制成的酊剂(通常为药材的酒精提取物)。特别是分离出的水飞蓟素尤为适用(例如,DE1923982、DE1767666(Madaus))。

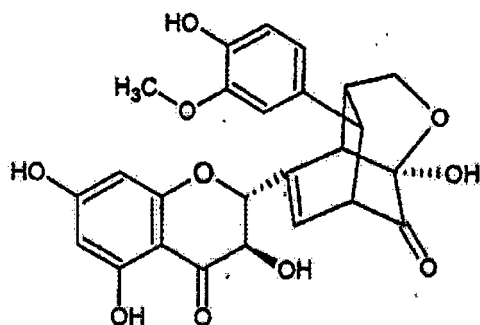
[0005] 水飞蓟素是一种黄酮木脂体复合物或多羟基苯基色满酮,其最先是在 20 世纪 60 年代从植物中分离出来的(Dissertation, Janiak Bernhard,1960 年 6 月,FU — Berlin(DE 2020407),Pelter A., **Hänsel** R., Tetrahedron Letters,25,1968))。

[0006] 水飞蓟素是由含黄酮木脂体复合物 I-IV 的混合物组成的;即,其主要组分为四种黄酮木脂体:水飞蓟宾(水飞蓟素 I)、水飞蓟宁(水飞蓟素 II)和水飞蓟亭(水飞蓟素 III)以及异水飞蓟宾(水飞蓟素 IV)。

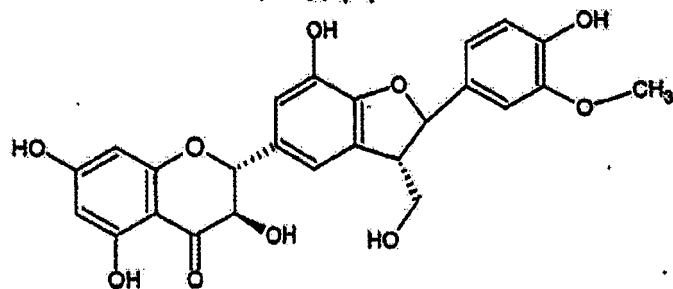
[0007]



水飞蓟宾



水飞蓟宁



水飞蓟亭

[0008] 在这些黄酮木脂体中,紫衫叶素与松柏醇相连接。

[0009] 另外已知的其它组分是脱氢水飞蓟宾、3-脱氧水飞蓟亭、去氧水飞蓟宁(水飞木宁)、silyadrin、silybinom、silymerin 和 neosilymerin。

[0010] 优选水飞蓟的果实用于提取物的制备。水飞蓟的这些提取物及其制备方法已经在现有技术中描述,例如在 DE1923982、DE2914330 (Madaus) 中公开。

[0011] 水飞蓟果实的干提取物也是已知的 (Extr. cardui mariae fruct. sicum), 其尤其是使用乙酸乙酯萃取剂等从植物药材获得的, 并且依据适用的欧洲药典 (Ph. Eur.) 进行标准化。

[0012] 对于提取物声明的要求是总计水飞蓟素含量为优选 30-65 重量% (其他含量范围是可能的), 该水飞蓟素部分含有下列成分:

[0013] 40-65 重量%水飞蓟宾 A 和 B (非对映异构体混合物, $C_{25}H_{22}OH_{10}$ 分子量 482.4) 和

[0014] 10-20 重量%异水飞蓟宾 A 和 B (非对映异构体混合物, $C_{25}H_{22}OH_{10}$ 分子量 482.4) 和

[0015] 20-45 重量%水飞蓟宁和水飞蓟亭 ($C_{25}H_{22}OH_{10}$ 分子量 482.4)。

[0016] 为了制备提取物,通常要将原料(此处指的是植物药材)进行脱脂、提取、过滤、浓缩和提纯。

[0017] 通常根据用乙酸乙酯/乙醇/丙酮/甲醇(任选含水)或含有上述溶剂的含水混合物进行所述连续提取之后,进行过滤,随后浓缩。然后,使用乙醇和己烷进行提纯(进一步脱脂),从而可以获得上述含量的水飞蓟素。

[0018] 这种组合物允许水飞蓟素释放率为30%到约40%(根据欧洲药典5.7;2.9.3测定(01/2006:20903,当时有效的版本,例如使用篮法、桨式模型(paddle model))。

[0019] 然而,对于提高天然提取物中水飞蓟素的释放率存在高需求。

[0020] 已知,这些黄酮木脂体不溶于水或难溶于水(纯水飞蓟素在pH 6.9时的溶解度为约0.08mg/mL)。由于此溶解度特性,这些化合物的释放率以及其在人类或哺乳动物体内的实际生物利用率/吸收性能都是不足的。

[0021] 为了提高释放率,已经进行了尝试来衍生黄酮木脂体,例如借助多元醇、氨基糖、酯,或借助包合物的络合,如环糊精(EP0422497B1(Madaus)),或络合物结合,如借助磷脂酰胆碱。

[0022] 然而,缺点是可能产生引起不希望的副作用的生理学外来物质。

[0023] 此外,从现有技术也已知,可以通过载体物质来提高释放率,例如1-乙烯基-2-吡咯烷酮、甘露醇等(EP0722918B1,US5,906,991(Madaus))。另外,润湿剂,如聚山梨醇酯(表面活性剂)是必要的。EP1021198B1(Madaus)建议用PEG共沉淀水飞蓟素。然而,这些提及的方法都具有这样的缺点:配量给药变得困难,并且可能产生具有不明确副作用的外来物质。

[0024] 因此,本发明的目的是提供一种改进的水飞蓟果实提取物,特别是一种在保持其天然特性的同时具有有利地提高的水飞蓟素释放率的提取物。在此,应该制备基本上不含添加剂、补充剂(Bei-**zuschläge**)、载体物质或润湿剂的提取物。

[0025] 通过提供一种制备水飞蓟果实提取物的方法实现该目的,其中以下述步骤

[0026] a.) 使用中等极性的溶剂(例如,乙酸乙酯、乙醇、丙酮、甲醇,任选含水分)提取植物药材,优选在40-80摄氏度,特别优选在50-70摄氏度,

[0027] b.) 进行分离,优选过滤,

[0028] c.) 进行浓缩,优选在真空搅拌下,温度低于60摄氏度,优选低于40摄氏度,和c') 任选地用热水洗涤,

[0029] d.) 混入乙醇,优选96%或更高浓度的乙醇,或具有相似极性的溶剂,然后混入己烷或具有相似极性的溶剂中并进行浓缩,优选压力为1-100毫巴,分离出得到的乙醇-水相,

[0030] e.) 进行干燥并任选地进行粉碎,

[0031] f.) 纳入无水的醇优选乙醇中

[0032] g.) 任选进行过滤和浓缩,和

[0033] h.) 进行干燥,并任选进行粉碎。

[0034] 令人惊讶的是,附加的步骤f.)使水飞蓟素的释放率显著提高至80%(参见对比例)。这是极为有利的,因为这使本发明的水飞蓟果实提取物的低剂量得以实现。此外有利的是,获得了在现有技术中只有借助添加剂、补充剂、载体物质和润湿剂才能获得的品质。

[0035] 步骤f.)中的术语“无水的醇”优选地包括C1-C4的醇,特别优选乙醇,例如99%或甚至99.5%的纯度。

[0036] 在此,本发明同样涉及制备具有 80%或更高的水飞蓟素释放率的水飞蓟果实提取物的方法,其中,具有 15-85 重量%、特别是 30-65 重量%的水飞蓟素含量的提取物被纳入无水的醇中,任选进行过滤和浓缩,然后进行干燥,并任选进行粉碎。

[0037] 在本发明范围内,“水飞蓟素”指的是一种物质混合物,其(至少)含有不同浓度的四种物质:水飞蓟宾、水飞蓟宁、水飞蓟亭和异水飞蓟宾(Isosilbin)。这些物质相互间的比例、以及混合物中另外的物质的存在是无关紧要的。然而,优选的是,这些物质符合欧洲药典或 DAB 当时适用的版本的要求。这是本发明的情况。

[0038] “80%或更高的水飞蓟素释放率”指的是至少 80%的是溶于水溶液中的(根据欧洲药典的标准;见实施例)。

[0039] 这有利地使吸收性能提高。

[0040] 通过方法步骤 f.) 使得得到的提取物中的结晶份额显著减少,并得到具有基本上无定形的晶体变型的水飞蓟果实提取物,可以看出,得到的水飞蓟果实提取物是特别合适的。

[0041] 本发明因此涉及一种新的水飞蓟果实提取物或黄酮木脂体制剂,其具有基本上无定形的晶体变型(见图 1 中 X 射线结构分析的对比试验)。

[0042] 在一个特别优选的实施方式中,本发明涉及一种新的水飞蓟果实提取物或黄酮木脂体制剂,其由无定形的晶体变型组成,其中晶体份额少于 20%、优选少于 10%、特别优选少于 7%、甚至为 5%。

[0043] 在此,本发明进一步涉及一种由本发明的水飞蓟果实提取物组成的药物,或其用于预防和治疗肝和胆囊功能障碍的用途,特别是用于中毒性肝损伤(脂肪肝、酒精肝)、肝病,例如毒蕈中毒、急性肝功能衰竭、肝坏死、肝萎缩、肝硬化、肝纤维化、肝肿大和肝脂肪变性、肝功能不全和肝炎,特别是丙型肝炎。

[0044] 本发明进一步涉及一种药物制剂,其含有由本发明的水飞蓟果实提取物组成的本发明的药物。

[0045] 可以以单位剂量的药物制剂的形式提供本发明的水飞蓟果实提取物。这表示制剂以单份的形式提供,例如片剂、锭剂、胶囊、丸剂、栓剂和针剂,其活性物质的含量(可以)相应于单剂量的一部分或数倍。单位剂量可以含有,例如,1、2、3 或 4 份单次剂量,或 1/2、1/3 或 1/4 单次剂量。单次剂量优选含有一次施用中给予的活性物质的量,并且通常对应于整个日剂量或日剂量的一半、三分之一、或四分之一。

[0046] 无毒的、惰性的、药学上合适的载体物质指的是固体、半固体或液体稀释剂、填料和各种配制用辅料。

[0047] 优选的药物制剂为片剂、锭剂、胶囊、丸剂、颗粒、栓剂、溶液、糖浆、悬浮剂和乳剂。除了包含常规的载体物质以外,片剂、锭剂、胶囊、丸剂和颗粒还可以含有一种或多种活性物质,如:a) 填料和增容剂,例如,淀粉、乳糖、蔗糖、葡萄糖、甘露醇和硅酸;b) 粘合剂,例如,羧甲基纤维素、藻酸盐、明胶和聚乙烯吡咯烷酮;c) 保湿剂,例如,甘油;d) 崩解剂,例如,琼脂、碳酸钙和碳酸钠;e) 溶解延缓剂,例如,石蜡;和 f) 吸收促进剂,例如,季铵化合物;g) 润湿剂,例如,十六烷醇和单硬脂酸甘油酯;h) 吸附剂,例如,高岭土和膨润土;以及 i) 润滑剂,例如,滑石、硬脂酸钙和硬脂酸镁以及固体聚乙二醇,或上述 a) 到 i) 项中所述物质的混合物。

[0048] 片剂、锭剂、胶囊、丸剂和颗粒剂可以设有常规的（任选地含有乳浊剂（Opakisierungsmittel）的）包衣和外壳，并且还如此组合，使得它们将一种或多种活性物质仅延迟地释放到或优选释放到肠道的特定部位，任选地以延迟的方式，其中，例如，可以使用聚合物和蜡作为包封物质。

[0049] 一种或多种活性物质还可以任选与一种或多种上述载体物质以微囊化形式存在。

[0050] 除了含有一种或多种活性物质以外，栓剂还可以含有常规的溶于水的或不溶于水的载体物质，例如，聚乙二醇、脂肪如可可脂和高级酯（例如，C14 醇与 C16 脂肪酸的酯）或这些物质的混合物。

[0051] 除了含有一种或多种活性物质以外，溶液和乳剂还可以含有常规的载体物质，如溶剂、助溶剂和乳化剂，例如：水、乙醇、异丙醇、碳酸乙酯、乙酸乙酯、苯甲醇、苯甲酸苄酯、丙二醇、1,3-丁二醇、二甲基甲酰胺、油脂，特别是棉籽油、花生油、玉米油、橄榄油、蓖麻油和芝麻油、甘油、甘油甲缩醛、四氢糠醇、聚乙二醇和山梨聚糖的脂肪酸酯或这些物质的混合物。

[0052] 除了含有一种或多种活性物质，悬浮剂还可以含有传统的载体物质，如，液态稀释剂，例如：水、乙醇和丙二醇；防沉降剂，例如：乙氧基异硬脂醇、聚氧乙烯山梨醇酯和山梨聚糖酯、微晶纤维素、偏氢氧化铝（aluminium metahydroxide）、膨润土、琼脂和黄蓍胶或这些物质的混合物。上述制剂形式还可以含有染料、防腐剂，以及增香和矫味的添加剂，例如薄荷油和桉叶油；和甜味剂，例如糖精。

[0053] 实施例和附图：

[0054] 下述实施例仅用于阐明本发明，而非将本发明限于这些实施例。

[0055] 实施例 1：

[0056] 水飞蓟素释放的对比试验：

[0057] 根据以上的描述制备对比用提取物（水飞蓟宾 Ch.-B. :194051, Ch.-B. :7085i），其中借助附加方法步骤 f.）制备水飞蓟宾 Ch.-B. :7085i。

[0058] 在 pH7.5、在欧洲药典所述的条件下（固体溶解试验；欧洲药典 5.7；2.9.3(01/2006 :20903) 提供下述（水飞蓟素）活性物质释放：

[0059]

样品	取样	溶解量%
水飞蓟宾 Ch.-B. : 194051	30 分钟后	4.16%
水飞蓟宾 Ch.-B. : 7085i	30 分钟后	49.13%

[0060] 结果表明，在步骤 f.）中通过使用无水乙醇进行处理，使得之前难溶的由无定形的和晶体结构构成的水飞蓟宾混合物转变成无定形的晶体变型（见图 1）（即晶体的晶格结构发生了改变），结果溶解度和活性物质释放得到提高。

[0061] 通过该附加的方法步骤实现制备了在 30 分钟后具有至少 80% 的总水飞蓟素的活性物质释放（按水飞蓟宾计）（HPLC-Ph. Eur. 01/2007 :2071）上述提取物，因为通过该方法

不仅提高了水飞蓟宾的溶解度,也提高了其他水飞蓟素异构体的溶解度。

[0062] 图 1 由水飞蓟宾 Ch. -B. :194051 和水飞蓟宾 Ch. -B. :7085i 的对比显示改变的晶体变型,借助 X- 射线结构分析(根据实施例 2 的条件)。

[0063] 在来自 PANalytical B.V. 的 X'Pert Pro MPD 衍射仪上进行 X 射线图谱研究,使用 Bragg-Brentano 几何仪和 X' Celerator 检测器。

[0064] 进一步的对比试验如下所述:

[0065] 实施例 2:

[0066] 使用的方法

[0067] a.) 样品制备:

[0068] 产品的两个固体粉末样品

[0069] 用根据本发明的方法的步骤 f.) 的 Ref. 7233i,

[0070] 和

[0071] 不用步骤 f.) 的 Ref. 7232i。

[0072] b.) 使用粉末法进行 X 射线衍射分析

[0073] 将部分粉末物质放入直径为 0.5 毫米的林德曼 (Lindemann) 玻璃毛细管内。

[0074] c.) 设备和测试条件:

[0075] PAN alytical X'Pert PRO MPD 衍射仪,其带有半径为 240 毫米的 9/9 测角仪,具有混合单色器的平行透镜,和带有用于毛细管的载样器的转移几何仪,其带有旋转器。

[0076] Cu-Ka 辐射 ($k = 1.5406\text{\AA}$)。

[0077] 功率:45kV-40mA。

[0078] 在 0.19 毫米量固定的狭缝。

[0079] 索勒 (Soller) 窗,其在入射量和衍射量中具有 0.02 的辐射。

[0080] d.) 具有 2122 的有效长度的 X' Celerator 测量装置。

[0081] 3 到 60° 2 θ 的 Spüngen 2 θ ,其具有 0.017 的步长和 1500 秒的每步测量时间。

[0082] e.) 目的

[0083] 用粉末法得到 X- 射线衍射图。测定结晶度。

[0084] f.) 方法

[0085] 结晶度指的是由晶相和非晶相组成的样品混合物中晶相所占的重量百分比,用结晶指数 C_i 表示:

[0086] $C_i = 100 [X_c / (X_a + X_c)]$, 其中 X_c 表示非晶相的重量份数。

[0087] X_c 的值由研究的角度范围中(晶相中的)所有窄点区域的和确定。 X_a 的值通过测定(非晶相中的)宽点区域或“色圈 (halos)”得到。

[0088] g.) 结果

[0089] 图 2 和 3 显示的是全角度测量范围中得到的图谱。其是由晶相和非晶相组成的样品混合物。

[0090] 样品 Ref. 7233i 的 C_i 值是 7% (见图 2),而样品 Ref. 7232i 的 C_i 值是 24% (见图 3)。

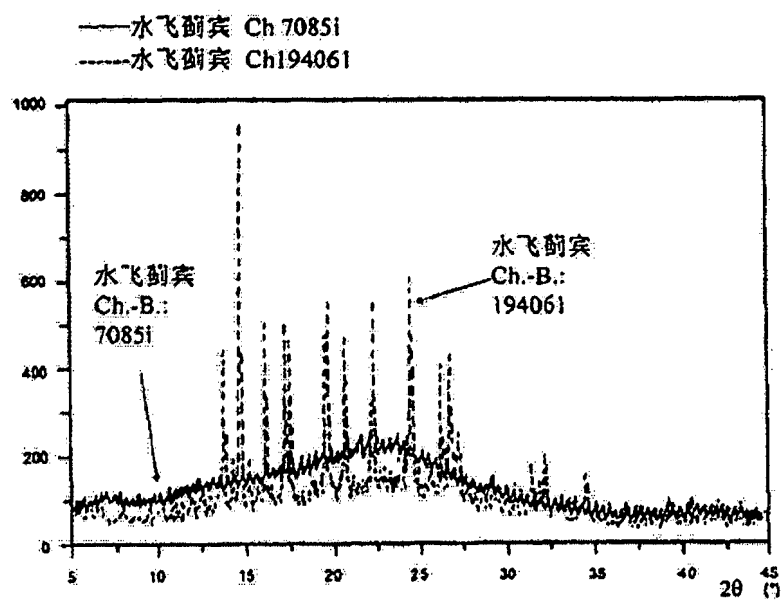


图 1

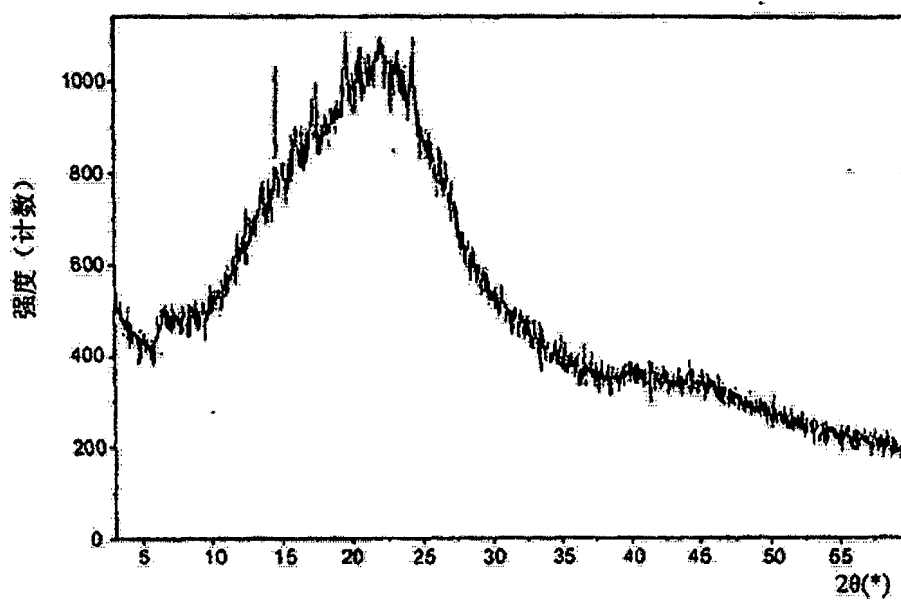


图 2

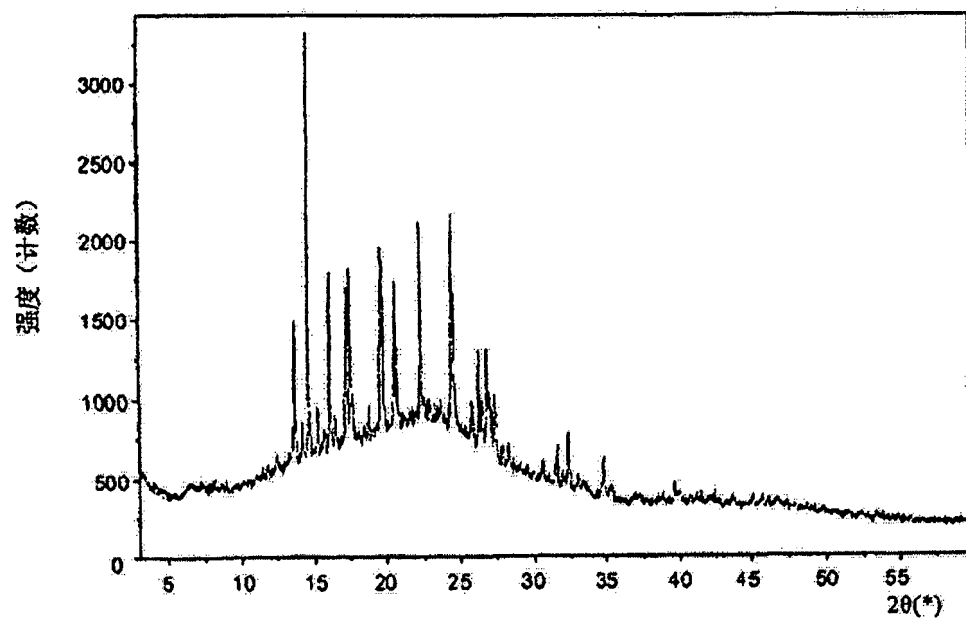


图 3

IHC150166

The present invention relates to a method for producing a milk thistle extract, particularly a flavanolignan preparation, having an increased release rate and improved resorbability, and to the use thereof, particularly for the therapy and prophylaxis of liver diseases.