



SUOMI-FINLAND

(FI)

Patentti- ja rekisterihallitus
Patent- och registerstyrelsen

(B) (11) KUULUTUSJULKAISU
UTLAGGNINGSSKRIFT

82940

6 (15) Patenti julkaisu
Patent publicerad 10 05 1991

(51) Kv.1k.5 - Int.cl.5

C 07F 9/10, C 07D 407/02

(21) Patenttihakemus - Patentansökning 862850

(22) Hakemispäivä - Ansökningsdag 04.07.86

(24) Alkupäivä - Löpdag 04.07.86

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig 18.01.87

(44) Nähtäväksipanon ja kuul.julkaisun pvm. -
Ansökan utlagd och utl.skriften publicerad 31.01.91

(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet

17.07.85 IT 21602/85 P

(71) Hakija - Sökande

1. I d B Holding S.p.A., Via Ripamonti, 99, Milano, Italia, (IT)

(72) Keksijä - Uppfinnare

1. Gabetta, Bruno, Via Ripamonti, 99, Milano, Italia, (IT)
2. Bombardelli, Ezio, Via Ripamonti, 99, Milano, Italia, (IT)
3. Pifferi, Giorgio, Via Ripamonti, 99, Milano, Italia, (IT)

(74) Asiamies - Ombud: Forssén & Salomaa Oy

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning

Menetelmä yhden tai useamman flavanolignaanin ja yhden tai useamman fosfolipidin välisten
lääkeaineina käytettävien kompleksien valmistamiseksi
Förfarande för framställning av som läkemedel användbara komplex av en eller flera
flavanolignaner med en eller flera fosfolipider

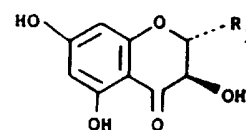
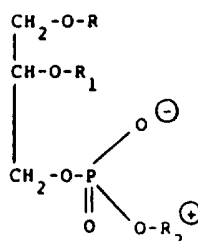
(56) Viitejulkaisut - Anförda publikationer

FR C 5060 M (A 61K), US A 4358442 (A 01N 57/26)

(57) Tiivistelmä - Sammandrag

Tämä keksintö kohdistuu uusiin yhdisteisiin, jotka käsittävät lipofiiliset, silybiinin, silidianiinin ja silikristiinin sekä fosfolipidien väliset kompleksit, sekä näiden kompleksien valmistamiseen muita kuin perinteisiä menetelmiä käyttäen. Näiden uusien yhdisteiden absorboituminen ruuansulatuskanavassa on huomattavasti parempi kuin erillisten flavanolignaanien absorboituminen, mikä johtaa näiden yhdisteiden suurempiin pitoisuuksiin plasmassa. Tuloksena oleva farmakokineettisten ja farmakologisten parametrien parantuminen on sellaista, että näitä aineita voidaan käyttää edullisesti akuuttien ja kroonisten, alkuperäistään aineenvaihdunnallisten tai infektiosta johtuvien tai luonteeltaan kudosmuutoksia aiheuttavien maksasairauksien hoitoon.

Uppfinningen avser nya föreningar som innefattar lipofila komplex av silybin, silidianin och silikristin med fosfolipider, och framställningen av dessa komplex genom icke-konventionella metoder. Absorptionen av de nya föreningarna i matsmältningsskanalen är märkbart större, vilket resulterar i högre plasmavärden än för individuella flavanolignaner. Den resulterande förbättringen i farmakokinetiska eller farmakologiska parametrer är sådan att substanserna framgångsrikt kan användas vid behandling av akuta och kroniska leversjukdomar av toxisk, metabolisk eller infektionsursprung eller sjukdomar av degenerativ natur.



- 1 Menetelmä yhden tai useamman flavanolignaenin ja yhden tai useamman fosfolipidin välisten lääkeaineina käytettävien kompleksien valmistamiseksi
- Förfarande för framställning av som läkemedel användbara
- 5 komplex av en eller flera flavanolignaner med en eller flera fosfolipider

10

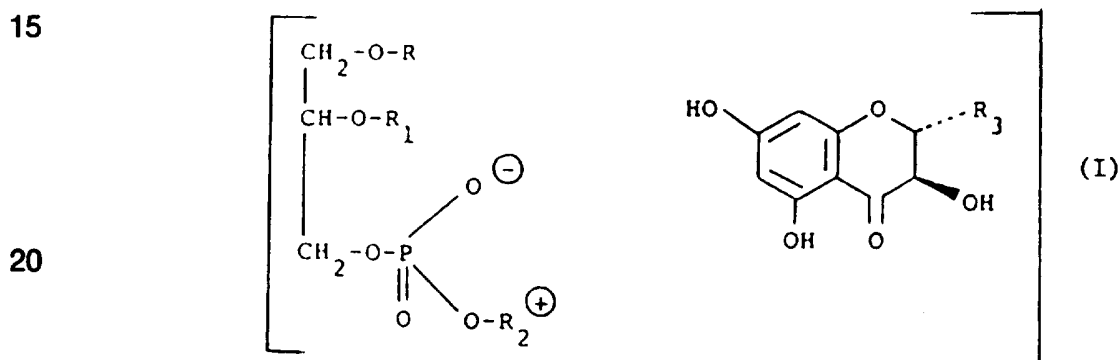
- Tämä keksintö kohdistuu uusiin, fosfolipidien ja silymariinin pääasiallisten komponenttien välisiin komplekseihin, joka silymariini on *Silybum marianum*-kasvin siemenistä saatu, tunnettu standardoitu uute, ja jota käytetään alkuperältään erilaisten maksasairauksien hoitamiseen. Sily-
- 15 mariini sisältää kolme pääasiallista komponenttia: silybiiniä, silidiiniä ja silikristiiniä, joiden arvellaan saavan aikaan uutteen lääkinällinen, maksaa suojaava aktiivisuus. Pääasiallisin komponentti on silybiini, joka on kahden diasteroisomeerin seos (Chem. Commun. 696, 1979) suurin piirtein suhteessa 1:1, ja tähän seokseen, erityisesti ve-
- 20 teen liukenevana hemimeripihkahapon diesterinä, liittyvää farmako-toksikologista ja kliinistä kirjallisuutta on olemassa erittäin paljon.

- Silybiinin ja silymariinin muiden komponenttien aktiivisuus, erityisesti annettaessa niitä injektoimalla, kohdistuu maksasoluun, missä nämä flavanolignaalit vaikuttavat prosessissa maksasolun kalvon stabiloimiseksi ja suojaamiseksi haitallisia aineita vastaan, joista haitallisista aineista mainittakoon hiilitetrakloridi, falloidiini, aminitiini, eräät raskas-
- 25 metallit, galaktosamiini sekä erilaiset antibiootit, jotka häiritsevät solukalvon toimintaa entsyymejä vapauttamalla, mikä johtaa solun kuole-
- 30 maan. Eräät näistä haitallisista aineista saavat aikaan samanlaista vahinkoa kuin maksatulehduksen (hepatitis) yleisiä muotoja ihmisessä aiheuttavat virukset, ja näin ollen tämän kaltaiset antihepatotoksiset molekyylit ovat lääkinnällisesti tärkeitä. Kuten kirjallisuudessa esite-
- 35 tyt tiedot osoittavat, paras suoja edellä mainittuja haitallisia aineita vastaan saadaan aikaan eläimessä, kun näitä yhdisteitä annetaan vatsa-ontelon sisäisesti tai suonen sisäisesti, jolloin vereen ja kohde-elimeen saadaan nopeasti yhdisteen suuria pitoisuuksia. Silybiinin suun kautta

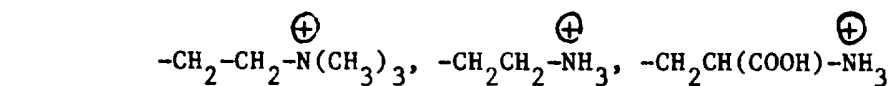
1 tapahtuvaan absorptioon liittyvissä, kirjallisuudessa silloin tällöin
 esitetyistä raporteista (Arzneim. Forsch. 23, 1322, 1973; Arzneim. Forsch.
25, 902, 1975; Planta Medica 45, 216, 1982), huolimatta asiaan liittyviä
 farmakologisia tutkimuksia on suoritettu erittäin vähän ja niiden toista-
 5 minen on vaikeata. Tämä osoittaa, ettei lääkeaineen biologinen saatavuus
 ole todella suuri tai riittävä tällä menetelmällä annettaessa.

Tämä keksintö kohdistuu uusien yhdisteiden valmistamiseen, joita yhdis-
 teitä saadaan antamalla yhden tai useamman fosfolipidin ja yhden tai
 10 useamman edellä mainitun flavanolignaanin vaikuttaa toisiinsa kemialli-
 sesti.

Tämän keksinnön mukaiset yhdisteet ovat tunnettuja yleisestä kaavasta I:



missä sekä R että R_1 , jotka voivat olla sama tai eri ryhmä, tarkoittaa
 25 palmitiini- tai steariini- tai oleiini- tai linoleiini- tai linoleiini-
 hapon asyyli- radikaalia; R_2^+ tarkoittaa yhtä radikaaleista

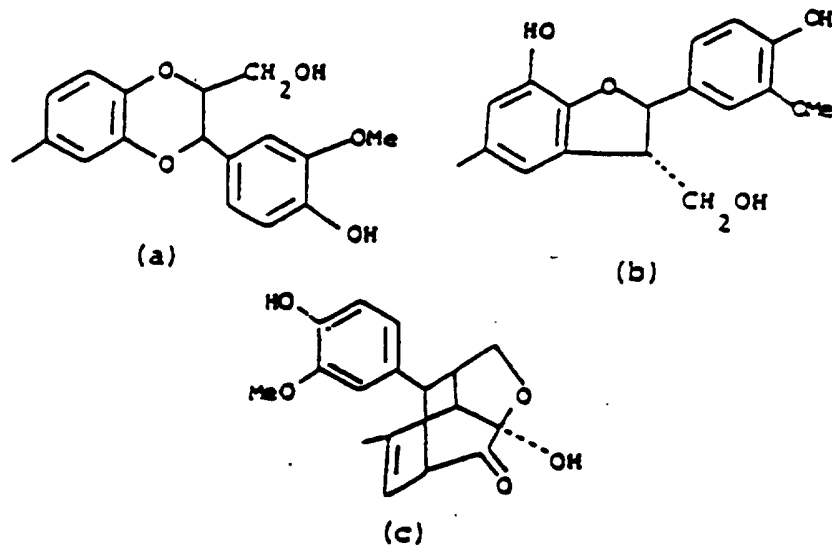


ja R^3 tarkoittaa yhtä radikaaleista a, b tai c:

1

5

10



flavanolignaaniin ja fosfolipidien moolisuhteen vaihdella alueella 1:0,3 - 1:2.

15

Näissä valmistuksissa käytettävät fosfolipidit voivat olla luonnollisia tai synteettisiä. Mieluiten käytetään kasvukunnasta saatuja luonnollisia fosfolipidejä (soijan fosfolipidejä), kuten esim. tuotetta Lipoid S 100^(R) (Lipoid KG, Ludwigshafen, Länsi-Saksa), joissa fosfatidyylikoliinin pitoisuus on vähintään 90 %, ja jotka sisältävät keskimäärin 63 % linoleiinihappoa, 16 % palmitiinihappoa, 3,5 % steariinihappoa ja 11 % oleiinihappoa kaikista rasvahapoistaan; tai luonnollista maksasta eristettyä fosfolipidiä.

20

25

Tämän keksinnön mukaisilla komplekseilla on ominaisuutena selvää lipofiilisyyttä, joka parantaa odottamattomasti kompleksina olevan flavanolignaaniin absorptiota suun kautta annettaessa, ja näin ollen näiden kompleksien spesifinen aktiivisuus on parantunut erilaisissa farmakologisissa kokeissa, jotka on toteutettu kirjallisuudessa jo kuvattujen,

30

perusyhdisteisiin liittyvien koemenetelmien mukaisesti.

35

Tämän keksinnön mukaisesti nämä uudet kompleksit valmistetaan antamalla luonnollisen tai synteettisen fosfolipidin, joka voi olla fosfatidyylikoliinia, fosfatidyylietanoliiniä tai fosfatidyyliisoleiiniä, ja jota käytetään 0,3-2 moolia, mieluiten 1 mooli, reagoita silybiinin, silidiinin tai silikristiinin, jota käytetään 1 mooli, ja jota käytetään yksin tai luonnollisena seoksena (silymariini), aproottisessa liuotti-

- 1 messa, kuten dioksaanissa tai asetonissa, josta kompleksi voidaan eristää saostamalla kompleksia liuottamattomalla aineella, kuten alifaattisilla hiilivedyillä tai lyofilisoimalla tai sumutuskuivaamalla.
- 5 Tunnetuissa, kuvatuissa menetelmissä liposomaalisten lääkeainekompleksien saamiseksi käytetään vettä tai puskuroitua liuosta. Tätä vastoin tässä keksinnössä käytetään pelkästään liuottimia, joiden dielektrisyysvakio on pieni. Vaikka lähtömolekyylit (silybiini, silidianiini, jne.) ovatkin liukenemattomia kloroformiin, etyylietteriin tai bentseeniin, niin ne
- 10 muuttuvat kuitenkin näihin liuottimiin erittäin liukoiksi sen jälkeen, kun ne ovat muodostaneet kompleksit fosfolipidin kanssa. Tämä kemiallisten ja fysikaalisten ominaisuuksien muuttuminen johtuu todellisen statiilin kompleksin muodostumisesta, mikä todetaan komponenttien IR-, ^1H -NMR- ja ^{13}C -NMR-spektreissä tapahtuneista muutoksista kompleksin
- 15 muodostumisen jälkeen.

- Kompleksin spektroskooppiset ominaisuudet eroavat selvästi yksittäisten komponenttien erikseen tarkastelluista, vastaavista ominaisuuksista, minkä perusteella voidaan olettaa, että flavanolignaenin ja fosfolipidin
- 20 polaaristen päiden välinen vuorovaikutus on voimakasta. Esimerkiksi fosfatidyylikoliinin (erityisesti dipalmitoyyli-fosfatidyylikoliinin) IR-spektrissä, kohdalla 1250 cm^{-1} , nähdään ryhmästä P=O johtuva vyöhyke; tämä vyöhyke katoaa silybiinin kanssa 1:1 muodostuneessa kompleksissa, kun taas se on läsnä näiden kahden komponentin mekaanisessa seoksessa.

- 25 Kompleksin muodostuminen nähdään myös NMR-spektreissä sekä kompleksin muodostavien yhdisteiden välisten sidosten muodostumiseen liittyvien vety- ja hiiliatomien relaksaatioajoissa. Erityisemmin, protonispekt-rissä nähdään flavanolignaenin hydroksyyllisistä protoneista, aromaattisista protoneista ja metoksiryhmästä, sekä lipidin NMe_3 -ryhmästä saatujen signaalien olennainen leveneminen. Toisaalta fosfatidyylikoliinin ja silybiinin kompleksin muodostamattomasta seoksesta saatu ^1H -NMR-spektri on yksinkertaisesti summa näiden kahden komponentin erillisistä spekt-
- 30 reistä.

- 35 ^{13}C -spektrissä kompleksin muodostumiseen läheisimmin liittyvien ydinten relaksaatioaika on lyhentynyt riittävästi johtaakseen kaikkien flavano-

- 1 lignaanista ja koliiniradikaalista sekä fosfolipidin glyseriiniradikaalista peräisin olevien signaalien katoamiseen.

Näin ollen oletetaan, tämän keksinnön tavoitteiden kuitenkin millään tavalla rajoittumatta tähän tulkintaan, että silybiini sitoutuu fosfolipidiin polaarisen päänsä välityksellä niin voimakkaasti, että sisäinen tai molekyylin sisäinen, pyöriminen estyy. Toisaalta lipidin polaariton osa, joka ei liity sidosten muodostumiseen, on vapaa liikkumaan, joten kompleksi on erittäin rasvaliukoinen.

- 10 Silidianiinin ja silikristiinin fysikaaliset ja kemialliset ominaisuudet ovat samankaltaiset kuin silybiinillä: sama pätee silymariiniin, joka sisältää nämä kolme aktiivista yhdistettä keskenään sekoitettuna. On selvää, että edellä esitetyt kemialliset ja fysikaaliset havainnot pätevät myöskin niihin flavanolignaanin ja fosfolipidin välisiin komplekseihin, joissa moolisuhde on muu kuin 1:1, tosin eräin kvantitatiivisin eroin.

- 20 Kuten edellä mainittiin, biologisesti tarkastellen, näiden flavanolignaanin ja fosfolipidin välisten kompleksien biologinen saatavuus suun kautta annettaessa on odottamattomasti suurentunut, jolloin moniin fenolisiin aineisiin, erityisesti silymariiniin liittyviltä, tunnetuilta absorptio- vaikeuksilta vältytään. Tämän seurauksena uusien yhdisteiden farmakologinen aktiivisuus on ilmeisempää ja se on osoitettavissa jopa suun kautta annettaessakin.

- 30 Kuten taulukossa 1 esitetään (taulukon 1 liittyessä silybiiniin ja sen sekä soiijan fosfolipideistä saadun fosfatidyylikoliinin väliseen 1:1 kompleksiin), absorptio rotassa on selvästi parempaa kompleksin tapauksessa. Silymariinin muut komponentit käyttäytyvät kuten silybiini kompleksina annettaessa.

- 35 Taulukossa 2 esitetään saman, silybiinin ja soiijan fosfolipideistä saadun fosfatidyylikoliinin välisen 1:1 kompleksin aktiivisuus tavanomaisessa kokeessa, jossa maksaa myrkytetään hiilitetrakloridilla. Kompleksi johtaa suun kautta annettuna glutaamioksaalietikka-transaminaasin (GOT) ja glutaami-palorypäle-transaminaasin (GPT) pitoisuuden merkittävästi alen-

1 tumiseen, kun taas silybiinin yhtä suuret molaariset annokset indusoivat
pelkästään näiden entsyymien pitoisuuksien vähäistä pienenemistä. Saman-
kaltaisia tuloksia esitetään taulukossa 3, liittyen silymarinin ja soi-
jan fosfolipideistä saadun fosfatidyylikoliinin väliseen 1:1 kompleksiin.

5

Ihmisessä voidaan samoin todeta erittäin merkittävät farmakokineettiset
erot sen jälkeen, kun silybiiniä ja sen sekä soijan fosfolipideistä saa-
dun fosfatidyylikoliinin välistä 1:1 kompleksia oli annettu suun kautta
yhtä suurina molaarisina annoksina; katso taulukko 4.

10

15

20

25

30

35

Taulukko 1

Silybiinin ja silybiinin ja fosfatidylkoliinin välisen 1:1 kompleksin ekvimolaaristen annosten farmakokineettinen vertailu rotissa, suun kautta antamisen jälkeen.

Käsittely	Suun kautta annettu annos mg/kg	Eläinten lukumäärä	Näytteenottoajat tuntia mcg/ml							
			0,25 h	0,50 h	1,00 h	2,00 h	3,00 h	4,00 h	6,00 h	8,00 h
Kompleksi	520*	4	4,12 + 1,59	3,69 + 0,55	4,60 + 0,87	2,00 + 0,09	0,38 + 0,09	0,11 + 0,02	0,05 + 0,00	0,00 + 0,00
Silybiini	200	4	0,07 + 0,01	0,06 + 0,01	0,11 + 0,02	0,05 + 0,00	0,05 + 0,00	0,00 + -	0,00 + -	- -

* Vastaa 200 mg/kg silybiiniä
0,00 = ei määritetty, koska rajan 0,05 mg/ml alapuolella.

1

Taulukko 2

5

Silybiinin ja silybiinin ja fosfatidyylikoliinin välisen 1:1 kompleksin
antihepatotoksinen aktiivisuus rotissa hiilitetrakloridilla myrkyttämisen
jälkeen

	Käsittely	Suun kautta annettu annos, mg/kg	Eläinten lukumäärä ryhmää kohden	GPT U/L	GOT U/L
10	Normaalit vertailut	-	10	22,40 ^{oo} ± 1,93	88,50 ^{oo} ± 5,20
15	Myrkytettyt vertailut	-	10	145,40 ± 31,43	339,40 ± 59,07
	Silybiini	25	10	94,30 ± 21,87 (-35,2 %)	252,60 ± 48,04 (-25,6 %)
20	Silybiini	250	10	94,90 ± 31,64 (-34,8 %)	200,00 [•] ± 33,01 (-41,1 %)
25	Kompleksi	65,8 [*]	10	65,90 ± 20,49 (-54,7 %)	181,80 ± 52,65 (-46,4 %)
30	Kompleksi	658 ^{* *}	10	46,90 ^{oo} ± 9,61 (-67,8 %)	148,10 ^{oo} ± 16,96 (-56,4 %)

35

• p < .05

^{oo} p < .01

* Vastaa 25 mg silybiiniä

* * Vastaa 250 mg silybiiniä.

1

Taulukko 3

5 Silymariinin sekä silymariinin ja fosfatidyylikoliinin välisen 1:1 kompleksin antihepatotoksinen aktiivisuus rotissa hiilitetrakloridilla myr-

5 käyttämisen jälkeen

	Käsittely	Suun kautta annettu annos, mg/kg	Eläinten lukumäärä ryhmää kohden	GPT U/L	GOT U/L
10	Normaalit vertailut	-	10	26.33 ^{**} ± 2.26	105.44 ^{**} ± 4.98
15	Myrkytettyt vertailut	-	10	146.50 ± 45.10	358.64 ± 64.15
20	Silymariini	25	10	125.30 ± 32.20 (-14.5)	290.15 ± 38.52 (-19.1)
	Silymariini	250	10	82.44 ± 21.90 (-43.7)	190.70 [*] ± 28.85 (-46.8)
25	Kompleksi	65 ^a	10	110.22 ± 18.75 (-24.8)	247.50 ± 26.52 (-31.0)
	Kompleksi	650 ^b	10	50.48 [*] ± 8.52 (-55.0)	201.38 [*] ± 23.64 (-43.8)
30					

* p < 0.05

** p < 0.01

a) Vastaa 25 mg silymariini

b) Vastaa 250 mg silymariinia.

35

Taulukko 4

Silybiinin sekä silybiinin ja fosfatidylikoliinin välisen 1:1 kompleksin ekvimolaaristen annosten farmakokineettinen vertailu ihmisessä.

Käsittely	Suun kautta annettu annos	Potilaiden lukumäärä	Näytteenottoajat, tunteja							
			ng/ml							
			0,25 h	0,50 h	1,00 h	2,00 h	3,00 h	4,00 h	6,00 h	8,00 h
Kompleksi	700	4	0,00	46	78	79	108	112	50	40
Silybiini	270	4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

0,00 = Menetelmän herkkyyden alapuolella (35 ng/ml).

- 1 Tämän keksinnön mukaisia tuotteita voidaan käyttää akuuttien tai kroonisten, alkuperältään toksisten, aineenvaihdunnallisten ja/tai infektiosta johtuvien maksasairauksien ja kudosten muutoksista johtuvien maksasairauksien hoitoon, sekä pyrittäessä ehkäisemään edeltäkkäsin maksan vaurioitumisen lääkaineiden ja/tai maksalle haitallisten ylellisyystuotteiden käytön seurauksena. Näitä aineita voidaan käyttää tavanomaisissa, suun kautta annettavissa farmaseuttisissa muodoissa, kuten puristeina, pinnoitettuna tabletteina, kapsleina tai paketteina, sekä nestemäisessä muodossa suspensiona.
- 10 Silybiinin ja soijasta saadun fosfatidyylikoliinin välisen 1:1 kompleksin suositeltava vuorokautinen annos aikuiselle on 130-1300 mg, mikä vastaa 50-500 milligrammaa silybiiniä.
- 15 Seuraavat esimerkit havainnollistavat keksintöä sitä kuitenkaan rajoittamatta.

Esimerkki 1

- 20 Silybiinin ja dipalmitoyyli-fosfatidyylikoliinin välinen 1:1 kompleksi
 (I, missä $R = R_1 = \text{palmitoyyli}$; $R_2^{\oplus} = -\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}^{\oplus}(\text{CH}_3)_3$; $R_3 = (\text{a})$)

- 4,82 g (0,010 moolia) silybiiniä liuotettiin 150 millilitraan kiehuvaa asetonia, ja sitä käsiteltiin 8,06 grammalla (0,011 moolia) dipalmitoyyli-
- 25 fosfatidyylikoliinia. Tuloksena olevaa liuosta palautusjähdytettiin tunnin ajan, jonka jälkeen se haihdutettiin vakuuissa 30 millilitran tilavuuteen. Tämä väkevöity liuos kaadettiin sekoittaen 350 millilitraan n-heksaania, ja sen jälkeen, kun seos oli seisonut yön yli huoneen lämpötilassa, kiinteä saostuma otettiin talteen suodattamalla, pestiin
- 30 n-heksaanilla ja kuivatettiin vakuuissa 40°C:n lämpötilassa. Tuotteena oli 11,6 g kompleksia (saanto 95 %) kellertävän valkoisena jauheena.

$$E_{1\%} = 175,8 \text{ aallonpituudella } 288 \text{ nm (CH}_3\text{OH)}$$

- 35 Analyysi yhdisteelle $\text{C}_{65}\text{H}_{102}\text{NO}_{18}\text{P}$ (molekyylipaino mp = 1216,48):

$$\text{Laskettu, \%} \quad \text{C} = 64,18; \text{H} = 8,45; \text{N} = 1,15; \text{P} = 2,55;$$

1 Todettu, % C = 63,97; H = 8,47; N = 1,11; P = 2,51.

Esimerkki 2

5 Silikristiinin ja dipalmitoyyli-fosfatidyylietanoliamiinin välinen 1:1
kompleksi (I, missä R = R₁ = palmitoyyli; R₂[⊕] = -CH₂-CH₂-NH₃[⊕]; R₃ = (b))

Suspensiota, joka sisälsi 4,82 g (0,010 moolia) silikristiiniä 100 millilitrassa dioksaania, käsiteltiin huoneen lämpötilassa sekoittaen liuoksella, joka sisälsi 6,91 g (0,010 moolia) dipalmitoyyli-fosfatidyylietanoliamiinia 200 millilitrassa dioksaania. Seoksen annettiin reagoida 10 5 tuntia, ja sitten se pakastekuivattiin. Tuotteena saatiin 11,7 g kompleksia kellertävän valkoisena jauheena.

15 E_{1%} = 174,6 aallonpituudella 288 nm (CH₃OH)

Analyysi yhdisteelle C₆₂H₉₆NO₁₈P (molekyylipaino mp = 1174,49)

Laskettu, % C = 63,41; H = 8,24; N = 1,19; P = 2,63;

20 Todettu, % C = 63,27; H = 8,26; N = 1,17; P = 2,59.

Esimerkki 3

25 Silydianiinin ja distearoyyli-fosfatidyylikoliinin välinen 1:1 kompleksi
(I, missä R = R₁ = stearoyyli; R₂[⊕] = -CH₂-CH₂-N[⊕](CH₃)₃; R₃ = (c))

Suspensiota, joka sisälsi 4,82 g (0,010 moolia) silidianiinia 150 millilitrassa asetonia, palautusjäähdytettiin sekoittaen distearoyyli-fosfatidyylikoliinin 8,68 gramman (0,011 moolia) kanssa noin tunnin ajan. 30 Reaktioseos haihdutettiin vakuuissa 35 millilitran tilavuuteen, ja se laimennettiin 400 millilitralla n-heksaania. Sen jälkeen, kun seos oli seisonut huoneen lämpötilassa yön yli, kiinteä saostuma otettiin talteen suodattamalla, se pestiin n-heksaanilla ja kuivattiin vakuuissa 40°C:n lämpötilassa. Tuotteena saatiin 11,1 g kellertävän valkoista kompleksia 35 (saanto 87,4 %).

E_{1%} = 148,8 aallonpituudella 288 nm (CH₃OH).

- 1 Analyysi yhdisteelle $C_{69}H_{110}NO_{18}P$ (molekyylipaino $mp = 1272,59$)

Laskettu, % C = 65,12; H = 8,71; N = 1,10; P = 2,43;

Todettu, % C = 64,98; H = 8,73; N = 1,12; P = 2,48.

5

Esimerkki 4

Silybiinin ja soijasta saadun fosfatidyylikoliinin välinen 1:1 kompleksi

- 10 Suspensiota, joka sisälsi 4,82 g (0,010 moolia) silybiiniä 150 millilitrassa asetonia, käsiteltiin huoneen lämpötilassa sekoittaen 9,2 grammalla (0,012 moolia) tuotetta "Lipoid S 100 ^(R)" (keskimääräinen molekyylipaino 770). Reaktioseos muuttui kirkkaaksi noin 3 tunnin kuluttua, ja se haihdutettiin vakuumissa 30 millilitran tilavuuteen. Seos
- 15 laimennettiin 300 millilitralla n-heksaania, jonka jälkeen komponentti saostui ja se otettiin talteen suodattamalla yhden yön kuluttua, ja kuivattiin vakuumissa 40°C:n lämpötilassa. Saantona oli 11,9 g (94 %) tuotetta, joka oli kellertävän valkoista jauhetta.
- 20 $E_{1\%}^{1\text{cm}} = 172,8$ aallonpituudella 288 nm (CH_3OH).

Analyysi: ($mp = 1252$)

Laskettu, % N = 1,12; P = 2,48;

- 25 Todettu, % N = 1,15; P = 2,55.

Esimerkki 5

Silymariinin ja soijasta saadun fosfatidyylikoliinin välinen 1:1

- 30 kompleksi

Liuesta, joka sisälsi 5 g silymariinia 100 millilitrassa asetonia, käsiteltiin huoneen lämpötilassa sekoittaen 8 grammalla tuotetta "Lipoid S 100 ^(R)". Täydellisen liukenemisen jälkeen seos haihdutettiin vakuumissa

35 30 millilitraksi, ja kaadettiin sekoittaen 300 millilitraan petrooli-eetteriä. Saostuma, jonka annettiin laskeutua yön yli, otettiin talteen suodattamalla, pestiin petroolieetterillä ja kuivattiin vakuumissa 40°C:n

1 lämpötilassa. Tuotteena saatiin 11,1 g kompleksia.

$E_{1\%} = 170,2$ aallonpituudella 288 nm (CH_3OH).

5 Analyysi: todettu % N = 1,12; P = 2,50.

Esimerkki 6

Silybiinin ja soijasta saadun fosfatidyylikoliinin välinen 1:2 kompleks

10

Suspensiota, joka sisälsi 4,82 g (0,010 moolia) silybiiniä 75 millilitrassa dioksaania, käsiteltiin sekoittaen liuoksella, joka sisälsi 15,4 g (0,020 moolia) tuotetta "Lipoid S 100^(R)". Reaktioseos muuttui kirkkaaksi 4 tunnin kuluttua, ja se pakastekuivattiin, jolloin saatiin

15 29 g vaaleankeltaista kompleksia.

$E_{1\%} = 160$ aallonpituudella 288 nm (CH_3OH).

Analyysi: (mp = 2022)

20

Laskettu, % N = 1,38; P = 3,07;

Todettu, % N = 1,35; P = 3,11.

Esimerkki 7

25

Silybiinin ja soijasta saadun fosfatidyylikoliinin välinen 1:0,3 kompleks

Liuosta, joka sisälsi 2,41 g (0,005 moolia) silybiiniä ja 100 ml dioksaania, käsiteltiin 60°C:n lämpötilassa tunnin ajan 0,770 grammalla (0,001 moolia) tuotetta "Lipoid S 100^(R)". Reaktioseos haihdutettiin kuiviin vakuuissa, ja jäännös liuotettiin 100 millilitraan kloroformia.

30

Astian pohjalla oleva, kompleksia muodostamaton silybiini poistettiin suodattamalla ja kompleksin sisältävät emäliuokset haihdutettiin vakuuissa kuiviin. Jäännöksenä, joka kuivattiin vakuuissa 30°C:n lämpötilassa, saatiin 2,3 g kompleksia kellertävän valkoisena jauheena.

35

- 1 $E_{1\%} = 300$ aallonpituudella 288 nm (CH_3OH)

Analyysi: (mp = 713)

- 5 Laskettu, % N = 0,59; P = 1,30;
 Todettu, % N = 0,56; P = 1,34.

Esimerkki 8

- 10 Tabletit, jotka sisältävät silybiinin ja soijasta saadun fosfatidyyli-
koliinin välistä kompleksia

Kukin 1,2 gramman painoinen tabletti sisältää:

- | | | |
|----|---------------------------------------|--------|
| 15 | Kompleksia (vastaa 200 mg silybiiniä) | 520 mg |
| | Rakeista selluloosaa | 390 mg |
| | Laktoosia | 100 mg |
| | Tärkkelystä | 100 mg |
| | PVP | 10 mg |
| 20 | Karboksimetyyliselluloosaa | 60 mg |
| | Magnesiumstearaattia | 20 mg |

Esimerkki 9

- 25 Kapselit, jotka sisältävät silybiinin ja soijasta saadun fosfatidyyli-
koliinin välistä 1:1 kompleksia

Kukin 0,275 gramman painoinen kapseli sisältää:

- | | | |
|----|---------------------------------------|--------|
| 30 | Kompleksia (vastaa 100 mg silybiiniä) | 260 mg |
| | Silika jauhetta | 10 mg |
| | PVP | 2,5 mg |
| | Magnesiumstearaattia | 2,5 mg |

35

1

Esimerkki 10

Rakeet, jotka suspendoidaan veteen, ja jotka sisältävät silybiinin ja soijasta saadun fosfatidyylikoliinin välistä 1:1 kompleksia

5

Kukin 3 gramman suuruinen pakkaus sisältää:

	Kompleksia (vastaa 200 mg silybiiniä)	520 mg
	Laktoosia	2000 mg
10	Mannitolia	238 mg
	Ammoniumglysyrritsinaattia	10 mg
	Natriumsakkariinia	2 mg
	Kuivattua appelsiinimehua	200 mg
	Aromiaineita	30 mg

15

Esimerkki 11

Kapselit, jotka sisältävät silymariinin ja soijasta saadun fosfatidyylikoliinin välistä 1:1 kompleksia

20

Kukin kapseli oli identtinen esimerkin 9 mukaisen kapselin kanssa, mutta sisälsi 260 mg silymariin ja fosfatidyylikoliinin välistä 1:1 kompleksia (vastaa 100 mg silymariinia) eikä silybiinin kanssa muodostunutta kompleksia.

25

Esimerkki 12

Rakeet, jotka suspendoidaan veteen, ja jotka sisältävät silymariinin ja fosfatidyylikoliinin välistä 1:1 kompleksia

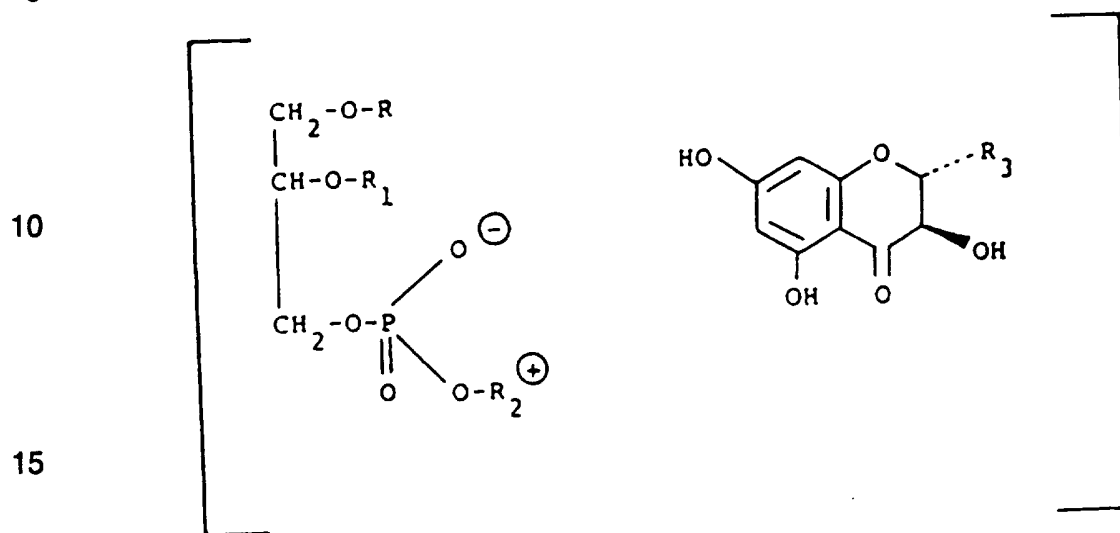
30

Kukin 3 gramman suuruinen paketti oli identtinen esimerkin 10 mukaisen paketin kanssa, mutta sisältää 520 mg silymariinin ja fosfatidyylikoliinin välistä 1:1 kompleksia (vastaa 200 mg silymariinia) eikä silybiinin kanssa muodostunutta kompleksia.

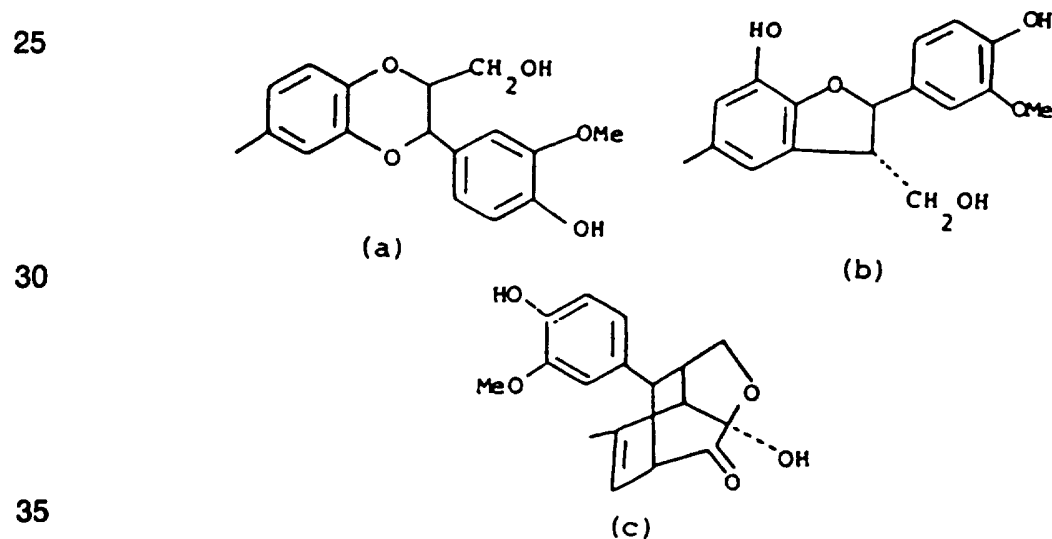
35

1 Patenttivaatimukset

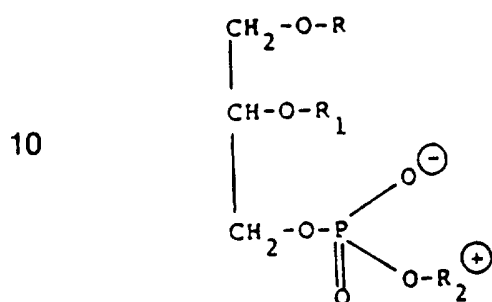
1. Menetelmä yhden tai useamman flavanolignaenin ja yhden tai useamman fosfolipidin välisten lääkeaineina käytettävien kompleksien valmistamiseksi, joilla komplekseilla on kaava I



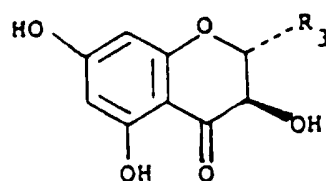
missä sekä R että R₁, jotka ovat sama tai eri ryhmä, tarkoittaa palmitiini-, steariini-, oleiini-, linoleiini- tai linoleiinihapon asyyli-
jäännöstä; R₂⁺ tarkoittaa yhtä seuraavista jäännöksistä -CH₂-CH₂-N⁺(CH₃)₃,
-CH₂CH₂-NH₃⁺ tai -CH₂CH(COOH)-NH₃⁺; ja R₃ tarkoittaa yhtä seuraavista radikaaleista a, b tai c:



- 1 flavanolignaaniin ja fosfolipidien välisen moolisuhteen vaihdellessa
 alueella 1:0,3 - 1:2, t u n n e t t u siitä, että yhden tai useamman
 luonnollisen tai synteettisen fosfolipidin, jolla on kaava II, annetaan
 reagoida aproottisissa liuottimissa yhden tai useamman kaavan III mukai-
 5 sen flavanolignaaniin kanssa



(II)



(III)

15

- (missä R, R₁, R₂ ja R₃ ovat edellä esitettyjen määritelmien mukaiset) fla-
 vanolignaaniin ja fosfolipidin välisen moolisuhteen vaihdellessa alueella
 1:0,3 - 1:2, ja tuloksena olevat kompleksit otetaan talteen kompleksia
 20 liuottamattomalla liuottimella saostamalla, pakastekuivaamalla tai sumu-
 tuskuivaamalla.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että
 mainittu aproottinen liuotin valitaan ryhmästä, joka käsittää dioksaanin
 25 ja asetonin, ja kompleksia liuottamaton liuotin valitaan ryhmästä, joka
 käsittää alifaattiset hiilivedyt ja niiden seokset.

3. Patenttivaatimusten 1-2 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä,
 että flavanolignaani (III) on silybiini ja fosfolipidi (II) on fosfati-
 30 dylikoliini.

4. Patenttivaatimusten 1-2 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä,
 että flavanolignaani (III) on silikristiini ja fosfolipidi (II) on dipal-
 mitoyyli-fosfatidyylietanoliini.

35

5. Patenttivaatimusten 1-2 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä,
 että flavanolignaani (III) on silidianiini ja fosfolipidi (II) on di-

1 stearoyyli-fosfatidyylikoliini.

6. Patenttivaatimusten 1-5 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä,
että flavanolignaania (III) ja fosfolipidiä (II) on läsnä moolisuhteena
5 1:1.

7. Patenttivaatimusten 1-2 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä,
että flavanolignaani (III) on silymariini ja fosfolipidi (II) on soi-
jasta saatua fosfatidyylikoliinia.

10

8. Patenttivaatimuksen 7 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä,
että silymariinia ja soijasta saatua fosfatidyylikoliinia on läsnä mooli-
suhteena, joka vaihtelee arvojen 1:0,3, 1:1 ja 1:2 välillä.

15

20

25

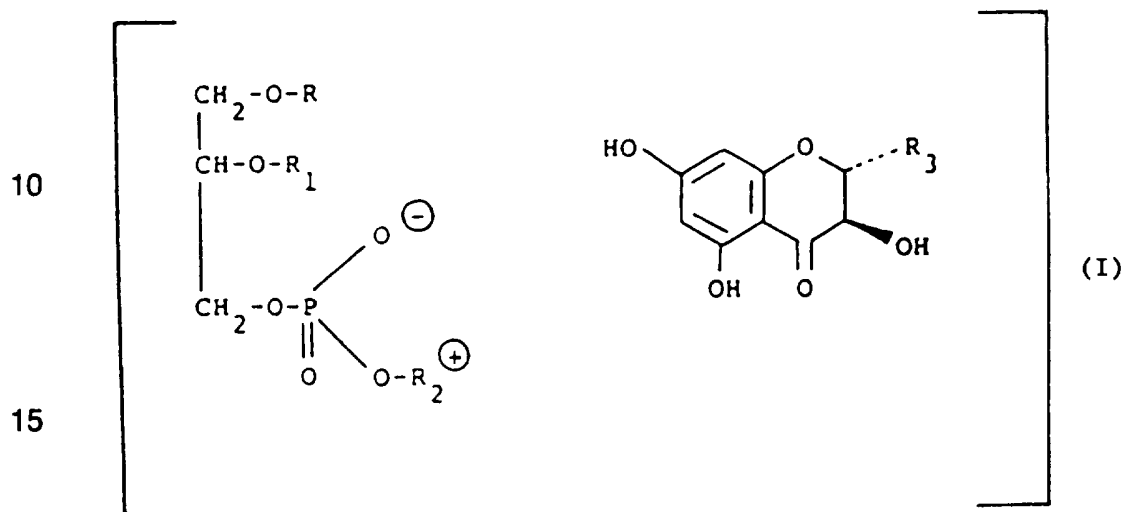
30

35

1 Patentkrav

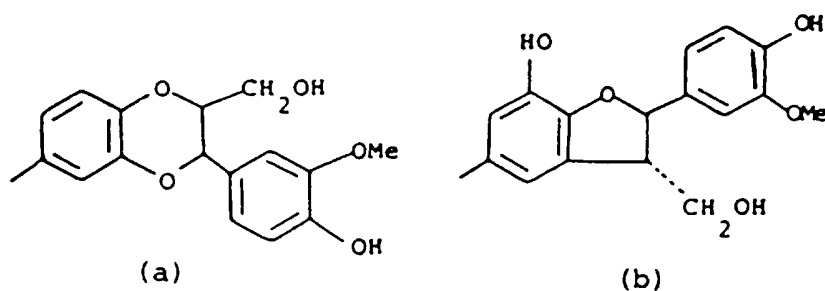
1. Förfarande för framställning av som läkemedel användbara komplex av en eller flera flavanolignaner med en eller flera fosfolipider med formeln

5 (I)

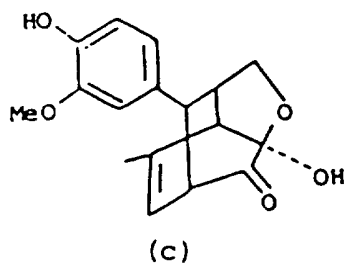


där R och R₁, som är likadana eller olika, vardera avser acylresten av
 20 palmitin-, stearin-, olein-, linolein- eller linolensyra; R₂⁺ avser en
 av resterna -CH₂-CH₂-N⁺(CH₃)₃, -CH₂CH₂-N⁺H₃ eller -CH₂CH(COOH)-N⁺H₃;
 och R₃ avser en av radikalerna a, b eller c:

25

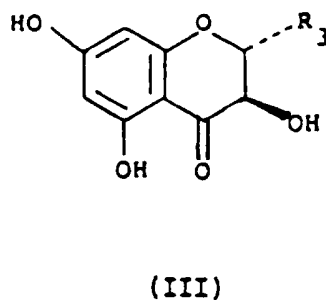
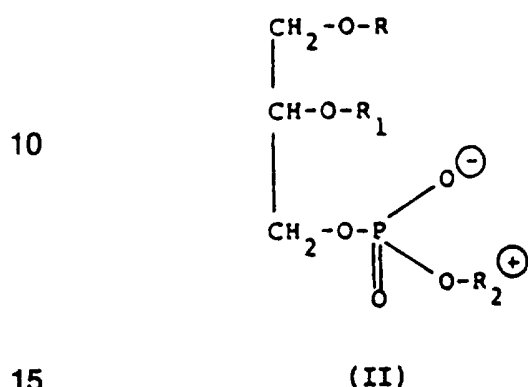


30



35

- 1 varvid molförhållandet mellan flavanolignanerna och fosfolipiderna varierar mellan 1:0,3 och 1:2, k ä n n e t e c k n a t därav, att man bringar en eller flera naturliga eller syntetiska fosfolipider med formeln (II) att reagera i aprotiska lösningsmedel med en eller flera flavanolignaner med formeln (III)



- (där R, R₁, R₂ och R₃ har samma betydelse som tidigare) i molförhållanden mellan flavanolignan och fosfolipid som är mellan 1:0,3 och 1:2, och de resulterande komplexen återvinnes genom utfällning i olösliga lösningsmedel, frystorkning eller spraytorkning.

2. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e t e c k n a t därav, att det aprotiska lösningsmedlet är valt från en grupp som består av dioxan och aceton, och det olösliga lösningsmedlet är valt från en grupp som består av alifatiska kolväten och blandningar av dessa.

3. Förfarande enligt patentkraven 1-2, k ä n n e t e c k n a t därav, att flavanolignanen (III) är silybin och fosfolipiden (II) är fosfatidylkolin.

- 30 4. Förfarande enligt patentkraven 1-2, k ä n n e t e c k n a t därav, att flavanolignanen (III) är silikristin och fosfolipiden (II) är dipalmitoyl-fosfatidyletanolamin.

- 35 5. Förfarande enligt patentkraven 1-2, k ä n n e t e c k n a t därav, att flavanolignanen (III) är silidianin och fosfolipiden (II) är distearoyl-fosfatidylkolin.

1 6. Förfarande enligt patentkraven 1-5, k ä n n e t e c k n a t därav, att flavanolignanen (III) och fosfolipiden (II) är närvarande i ett molförhållande på 1:1.

5 7. Förfarande enligt patentkraven 1-2, k ä n n e t e c k n a t därav, att flavanolignanen (III) är silymarin och fosfolipiden (II) är fosfatidylkolin från soja.

8. Förfarande enligt patentkrav 7, k ä n n e t e c k n a t därav, att
10 silymarinen och fosfatidylkolin från soja är närvarande i ett molförhållande som varierar mellan 1:0,3, 1:1 och 1:2.

15

20

25

30

35