

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 438 003**

51 Int. Cl.:

A61K 36/28 (2006.01)

A61P 1/16 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.12.2008 E 08865199 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.09.2013 EP 222320**

54 Título: **Nuevo extracto de cardo lechero, método para su preparación y empleo**

30 Prioridad:

23.12.2007 DE 102007063115

23.08.2008 DE 102008039271

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

15.01.2014

73 Titular/es:

EUROMED SA (100.0%)
Pol. Can Margarola C/ Rec de Dalt, 21-23
08100 Mollet del Vallès, Barcelona, ES

72 Inventor/es:

NAGELL, ASTRID;
XIOL AGUIRRE, JAIME y
RULL PROUS, SANTIAGO

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 438 003 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

Nuevo extracto de cardo lechero, método para su preparación y empleo

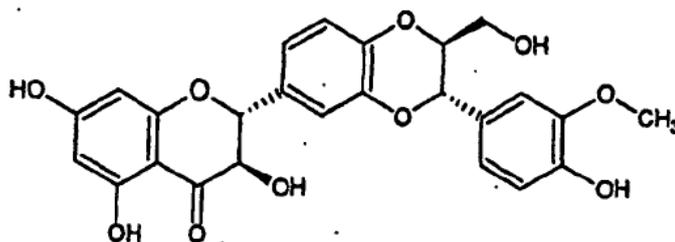
5 La presente invención se refiere a un método para preparar un extracto de frutos de cardo lechero, en particular un preparado de flavanolignano con elevada tasa de liberación y mejor capacidad de absorción, y a su uso, sobre todo en la terapia y profilaxis de afecciones hepáticas.

10 El cardo lechero (cardo mariano, *Silybum marianum* o *Carduus marianus*) es una planta que se cultiva sobre todo en el sudeste y centro de Europa (Austria, Hungría) y está naturalizada en Eurasia, Norteamérica y Sudamérica, así como en Australia. Otras zonas de cultivo se encuentran en China.

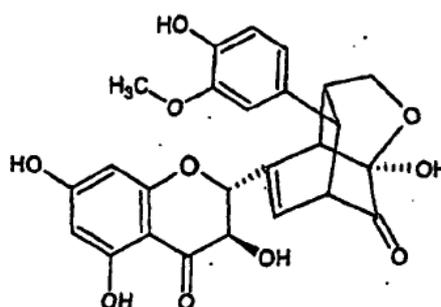
15 La efectividad de la droga cardo lechero (semillas y frutos) en la profilaxis y el tratamiento de diversas formas de disfunción hepática y biliar es conocida. La droga consta de frutos maduros liberados de papo, con un contenido mínimo de silimarina del 1,5% (*Pharmacopoea Europaea* (Ph. Eur.), farmacopea europea 2007). Se conocen tinturas de cardo lechero (en su mayoría extractos alcohólicos de la droga) desde la antigüedad. Resulta particularmente adecuada la silimarina aislada (p.ej. patentes DE 1 923 9.82, DE 1 767 666 (Madaus)).

20 La silimarina es un complejo de flavanolignano o polihidroxifenilcromanonas y fue aislada de la planta por primera vez en los años 1960 (Disertación de Janiak Bernhard, junio 1960, FU-Berlín (DE 2020407), Pelter A., Hänsel R., *Tetrahedron Letters*, 25, (1968)).

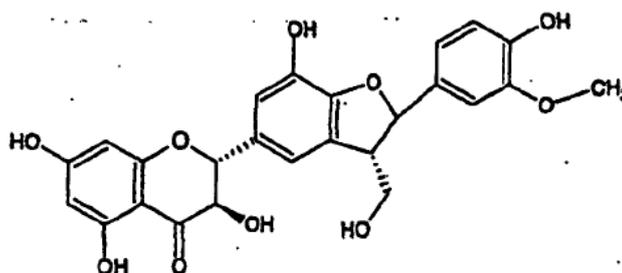
25 La silimarina está formada por una mezcla del complejo de flavanolignano I-IV y en los componentes principales por los cuatro flavanolignanos silibina (silibinina) (silimarina I), silidianina (silimarina II) y silicristina (silimarina III)



Silibina



Silidianina



Silicristina

e isosilibina (silimarina IV). En estos flavanolignanos la taxifolina está unida con alcohol coniferílico.

Otros componentes secundarios conocidos son dehidrosilibina, 3-desoxisilicristina, desoxisilidianina (silimonina), silandrina, silibinoma, silihermina y neosilihermina.

5 Para preparar el extracto se emplean preferentemente los frutos del cardo lechero. En el estado técnico ya están descritos estos extractos de cardo lechero y métodos para su preparación, tal como se revela p.ej. en las patentes DE 1 923 982, DE 29 14 330 (Madaus).

10 Asimismo se conoce un extracto seco de frutos de cardo lechero (Extr. Cardui mariae fruct. Siccum) que se obtiene de la droga vegetal, usando acetato de etilo entre otros medios de extracción, y está normalizado según la Ph. Eur. vigente.

15 Los requisitos declarados de un extracto seco ascienden a un contenido preferente de 30-65% en peso de silimarina (también son posibles otros intervalos de contenido), de manera que la parte de silimarina contiene los siguientes componentes:

40-65% en peso de:
 silibina(silibinina) A y B (mezcla diastereoisómera, C₂₅H₂₂OH₁₀ PM 482,4) y
 10-20% en peso de
 isosilibinina A y B (mezcla diastereoisómera, C₂₅H₂₂OH₁₀ PM 482,4) y
 20-45% en peso de:
 silidanina y silicristina (C₂₅H₂₂OH₁₀ PM 482, 4) .

25 Para preparar un extracto, la materia prima (en este caso la droga vegetal) se suele desengrasar, extraer, filtrar, concentrar y purificar.

30 Normalmente tras dicha extracción continua con acetato de etilo / etanol / acetona / metanol (si es preciso, acuoso) o con mezclas acuosas de los citados disolventes, se realiza una filtración seguida de concentración. Luego tiene lugar una purificación con etanol y hexano (ulterior desengrasado), obteniéndose el contenido de silimarina arriba citado.

La patente JP 2003 135023 A describe la extracción de semillas de cardo lechero con etanol anhidro y posterior secado por pulverización.

35 Con esta composición se consigue una tasa de liberación de silimarina del 30 – aprox. 40% (medida según Ph. Eur. 5.7; 2.9.3 (01/2006:20903 en la respectiva versión vigente, p.ej. mediante el método de cesta o el modelo Paddle).

No obstante hay una gran necesidad de aumentar la tasa de liberación de silimarina en el extracto natural.

40 Es sabido que estos flavanolignanos son insolubles o difícilmente solubles en agua (La solubilidad de la silimarina es de unos 0,08 mg/ml a pH 6,9). Por tanto la tasa de liberación de estos compuestos y de hecho su biodisponibilidad / capacidad de absorción en el cuerpo del hombre o de los mamíferos no es suficiente.

45 Para aumentar la tasa de liberación se ha intentado la preparación de derivados de flavanolignanos, p.ej. mediante polialcoholes, aminoazúcares, ésteres o compuestos de inclusión como la ciclodextrina (patente EP 0 422 497 B1 (Madaus)), o de complejos, p.ej. con fosfatidilcolina.

El inconveniente es que pueden formarse sustancias fisiológicamente extrañas de efectos secundarios indeseados.

50 Del estado técnico también es conocido que la tasa de liberación se puede aumentar con sustancias soporte, como p.ej. 1-vinil-2-pirrolidona, manitol y otras (patentes EP 0722 918 B1, US 5, 906, 991 (Madaus)). Además se necesitan humectantes como polisorbato (tensioactivo). En la patente EP 1 021 198 B1 (Madaus) se propone un coprecipitado de silimarina con la ayuda de PEG. Sin embargo todos los procesos mencionados tienen la desventaja de complicar la dosificación y de que pueden formarse sustancias extrañas cuyos efectos secundarios no están bien definidos.

55 Por lo tanto es necesario disponer de un extracto mejorado de frutos de cardo lechero, es decir uno que presente ventajosamente una mayor tasa de liberación de silimarina sin perder su carácter natural. Dicho extracto debe poder prepararse con la menor cantidad posible de aditivos, sustancias auxiliares, soportes y humectantes.

60 El objetivo se resuelve mediante un proceso de preparación de un extracto frutos de cardo lechero con una tasa de liberación de silimarina del 80% y más, que comprende las siguientes etapas:

a) extracción de la droga vegetal (*Silybum marianum*) con un disolvente de polaridad media escogido entre acetato de etilo, etanol, acetona, metanol - que, dado el caso, lleva partes de agua - a 40 – 80°C, con especial preferencia a 50 – 70°C,
 b) separación, preferentemente por filtración,

- c) concentración, preferiblemente al vacío, agitando a una temperatura inferior a 60°C, preferiblemente inferior a 40°C y c') si es preciso, lavando con agua caliente,
- d) mezcla con etanol, preferiblemente con etanol del 96% o más, y a continuación con hexano; concentración, preferiblemente a una presión de 1 - 100 mbar, y separación de la fase etanol-agua resultante,
- 5 e) secado y, dado el caso, trituración en
- f) alcohol anhidro, preferentemente etanol,
- g) si es preciso, filtración y concentración, y
- h) secado y, dado el caso, trituración.
- 10 Sorprendentemente la etapa adicional f) produce un significativo aumento de la tasa de liberación de silimarina, de hasta un 80% (véanse los ejemplos comparativos). Esto es especialmente ventajoso porque se consigue una menor dosificación del extracto de frutos de cardo lechero según la presente invención. También es ventajoso porque se logra una calidad que en el estado técnico solo es alcanzable mediante aditivos, sustancias auxiliares, soportes y humectantes.
- 15 El término "alcohol anhidro" en la etapa f) comprende preferiblemente alcoholes C1-C4, con especial preferencia etanol, del 99%, incluso del 99,5% de pureza.
- 20 En el marco de la presente invención se designa como silimarina una mezcla de sustancias que (al menos) lleva los cuatro compuestos silibina, silidianina, silicristina e isosibilina a diferentes concentraciones. En este caso no tiene importancia en qué proporciones recíprocas se encuentran estas sustancias, ni si en la mezcla hay otras sustancias. No obstante es preferible que estas sustancias cumplan las exigencias de la Ph. Eur. o del DAB en sus respectivas versiones vigentes, lo cual es el caso de la presente invención.
- 25 Una "tasa de liberación de silimarina del 80% o más" significa que los principios activos son solubles en disolución acuosa hasta un 80%, como mínimo (estándar según la Ph. Eur., véanse los ejemplos).
- Esto proporciona ventajosamente una mejor capacidad de absorción.
- 30 El extracto de frutos de cardo lechero producido resulta particularmente adecuado porque, gracias a la etapa de proceso f), se reduce en gran medida la porción cristalina en el extracto preparado y se obtiene un extracto de frutos de cardo lechero con una modificación cristalina esencialmente amorfa.
- 35 Por consiguiente, la presente invención se refiere a un nuevo extracto de frutos de cardo lechero o preparado de flavanolignanos que posee una modificación cristalina esencialmente amorfa (véanse las pruebas de análisis de la estructura por rayos X en la figura 1).
- 40 En una forma de ejecución especialmente preferida la presente invención se refiere a un nuevo extracto de frutos de cardo lechero o preparado de flavanolignanos constituido por una modificación cristalina amorfa, donde la porción cristalina es menor del 20%, preferiblemente menor del 10%, sobre todo menor del 7% o incluso del 5%.
- 45 La presente invención se refiere asimismo a un medicamento constituido por un extracto de frutos de cardo lechero según la misma o a su empleo en la profilaxis y tratamiento de disfunciones hepáticas y biliares, especialmente de lesiones hepáticas tóxicas (hígado graso, alcohol), hepatitis como la intoxicación por hongos, fallo hepático agudo, necrosis hepática, distrofia hepática, cirrosis hepática, fibrosis hepática, engrosamiento y degeneración grasa del hígado, insuficiencia hepática, hepatitis, sobre todo la hepatitis C.
- 50 La presente invención se refiere además a una formulación farmacéutica que contiene un fármaco según la presente invención, constituido por un extracto de frutos de cardo lechero conforme a la misma.
- 55 Los extractos de frutos de cardo lechero según la presente invención se pueden elaborar en forma de preparados farmacéuticos de dosis unitarias, lo cual significa que el preparado puede estar en forma de porciones sueltas, p.ej. de tabletas, grageas, cápsulas, píldoras, supositorios y ampollas, cuyo contenido de principio activo corresponde a una fracción o a un múltiplo de una dosis individual. Las dosis unitarias pueden contener p.ej. 1, 2, 3 o 4 dosis individuales o 1/2, 1/3 o 1/4 de una dosis individual. Una dosis individual contiene preferentemente la cantidad de principio activo que se administra en una aplicación y suele corresponder a una dosis diaria entera o a una mitad, un tercio o un cuarto de la misma.
- 60 Como soportes farmacéuticos atóxicos e inertes son idóneos los diluyentes, cargas y coadyuvantes de formulación de cualquier tipo, en forma sólida, semisólida o líquida.
- 65 Como formulaciones farmacéuticas preferidas cabe mencionar las tabletas, grageas, cápsulas, píldoras, granulados, supositorios, soluciones, jugos, suspensiones y emulsiones. Las tabletas, grageas, cápsulas, píldoras y granulados pueden contener el o los principios activos junto a las sustancias soporte habituales, como a) cargas y diluyentes, p.ej. almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manita y sílice, b) aglutinantes, p.ej. carboximetilcelulosa, alginatos,

5 gelatinas, polivinilpirrolidona, c) hidratantes, p.ej. glicerina, d) desintegradores, p.ej. agar-agar, carbonato cálcico y carbonato sódico, e) retardantes de disolución, p.ej. parafina, y f) acelerantes de absorción, p.ej. compuestos de amonio cuaternario, g) humectantes, p.ej. alcohol cetílico, monoestearato de glicerina, h) adsorbentes, p.ej. caolín y bentonita, e i) lubricantes, p.ej. talco, estearato cálcico y magnésico, y polietilenglicoles sólidos, o mezclas de las sustancias enumeradas desde a) hasta i).

10 Las tabletas, grageas, cápsulas, píldoras y granulados pueden recubrirse con las habituales capas y envolturas que, dado el caso, contienen agentes opacizantes y además pueden formularse de manera que liberen el o los principios activos solo o preferentemente en una parte determinada del tracto intestinal, si es necesario de forma retardada, pudiéndose emplear como masas de inclusión p.ej. sustancias poliméricas y ceras.

El o los principios activos también pueden estar en forma microencapsulada, si es necesario, con una o varias de las sustancias soporte arriba indicadas.

15 Además del o de los principios activos, los supositorios pueden contener las sustancias soporte usuales, solubles o insolubles en agua, p.ej. polietilenglicoles, grasas, p.ej. grasa de cacao y ésteres superiores (p.ej. alcohol C14 con ácido graso C16) o mezclas de estas sustancias.

20 Las soluciones y emulsiones, aparte del o de los principios activos, pueden contener las sustancias soporte usuales, como disolventes, solubilizantes y emulsionantes, p.ej. agua, etanol, isopropanol, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, dimetilformamida, aceites, especialmente los de semilla de algodón, cacahuete, germen de maíz, oliva, ricino y sésamo, glicerina, glicerina formal, alcohol tetrahidrofurfúrico, polietilenglicoles y ésteres de ácido graso del sorbitán o mezclas de estas sustancias.

25 Las suspensiones, aparte del o de los principios activos, pueden contener las sustancias soporte habituales, como diluyentes, p.ej. agua, etanol, propilenglicol, agentes suspensores, p.ej. alcoholes isoestearílicos etoxilados, ésteres de polioxietilensorbita y sorbitán, celulosa microcristalina, metahidróxido aluminico, bentonita, agar-agar y tragacanto o mezclas de estas sustancias. Dichas formulaciones también pueden contener colorantes, conservantes, así como aditivos aromatizantes y saborizantes, p.ej. esencia de menta y eucalipto, y edulcorantes, p.ej. sacarina.

30 Ejemplos y figuras:

Estos ejemplos sirven exclusivamente para ilustrar la presente invención, sin limitarla a ellos.

35 Ejemplo 1:

Ensayos comparativos de liberación de silimarina:

40 Se prepararon extractos comparativos (silibinina Ch.-B.: 194051, Ch.-B.: 7085i) según la descripción anterior, y la silibinina Ch.-B.: 7085i se elaboró con la etapa adicional f).

A pH 7,5 y en las condiciones indicadas por la Ph. Eur. (ensayo de disolución de sólidos; Ph. Eur 5.7; 2.9.3 (01/2006:20903) resulta una liberación de principio activo (silimarina) de:

| Muestra | Toma de muestra | Cantidad disuelta en % |
|---------------------------|------------------|------------------------|
| Silibinina Ch.-B.: 194051 | A los 30 minutos | 4,16% |
| Silibinina Ch.-B.: 7085i | A los 30 minutos | 49,13% |

45 Los resultados demuestran que, mediante el tratamiento con etanol anhidro en la etapa f), la mezcla de silibinina antes difícilmente soluble, constituida por estructura amorfa y cristalina, se modifica de modo cristalinamente amorfo (véase figura 1) (es decir, varía la estructura de la red cristalina), mejorando la solubilidad y la liberación de principio activo.

50 Con esta etapa adicional de proceso se ha conseguido preparar el extracto arriba descrito, con una liberación de principio activo de al menos un 80% de silimarina total, calculada como silibinina (HPLC- Ph. Eur.01/2007:2071), a los 30 minutos, pues con este método no solo mejoró la solubilidad de la silibinina, sino también la de los demás isómeros de silimarina.

55 La figura 1 muestra la modificación cristalina resultante de la comparación entre silibinina Ch.-B.: 194051 y silibinina Ch.-B.: 7085i mediante análisis estructural por rayos X (condiciones según el ejemplo 2).

60 Los análisis de rayos X se realizaron en un difractómetro X'Pert Pro MPD de la firma PANalytical B.V. con geometría Bragg-Brentano y detector X'Celerator.

Otros ensayos comparativos realizados:

Ejemplo 2:

Metódica empleada

- 5 a) Preparación de las muestras:
- Dos muestras sólidas en polvo de los productos
- 10 Ref. 7233i con la etapa f) según el proceso de la presente invención y Ref. 7233i sin la etapa f)
- b) Análisis de difracción de rayos X por el método de polvo
- 15 Introducción de partes del material en polvo en capilares de vidrio Lindemann de 0,5 milímetros de diámetro.
- c) Equipo y condiciones de ensayo:
- 20 Difractómetro PANalytical X'Pert PRO MPD con ángulo de medición $9/9$ y un radio de 240 milímetros, óptica paralela con monocromador híbrido y geometría de transmisión con portamuestras para capilares con rotación.
- Radiación Cu-Ka ($k = 1,5406 \text{ \AA}$).
- 25 Rendimiento de trabajo: 45 kV - 40 mA.
- Rendija que fija la cantidad con 0,19 milímetros
- Ventana Soller con radiación 0,02 en la cantidad incidente y en la cantidad difractada
- 30 d) Aparato medidor X'Celerator con una longitud activa de 2122.
- Barridos, 29 de 3 hasta 60° , 29 con un incremento de 0,017 y un tiempo de medición de 1500 segundos por paso.
- e) Objetivo
- 35 Generación de los diagramas de difracción de rayos X mediante el método de polvo. Determinación del grado de cristalización.
- f) Metódica
- 40 El grado de cristalización es el tanto por ciento en peso de fase cristalina en una mezcla mixta de fases cristalina y amorfa, según un índice de cristalización C_i :
- $$C_i = 100 [X_c / (X_a + X_c)] \text{ donde } X_c \text{ es la fracción en peso de la fase amorfa.}$$
- 45 Los valores de X_c se determinaron a partir de la suma de todos los puntos estrechos (la fase cristalina) en la zona angular del estudio. Los valores de X_a se determinaron calculando las zonas de puntos anchos o "halos" (la fase amorfa).
- 50 g) Resultados
- Las figuras 2 y 3 muestran los diagramas obtenidos en toda la zona angular de medición. Se trata de mezclas mixtas de fases cristalina y amorfa.
- 55 Los valores C_i resultantes fueron del 7% en el caso de la muestra Ref. 7233i (véase figura 2) y del 24% en el caso de la muestra Ref. 7232i (véase figura 3).

REIVINDICACIONES

- 5 1. Método para preparar un extracto de frutos de cardo lechero con una tasa de liberación de silimarina del 80% y más, caracterizado porque
- 10 a) la droga vegetal (*Silybum marianum*) se extrae con un disolvente de polaridad media, escogido entre acetato de etilo, etanol, acetona, metanol, a 40 – 80°C,
 b) se separa, preferentemente por filtración,
 c) se concentra, preferiblemente al vacío, agitando a una temperatura inferior a 60°C, preferiblemente inferior a 40°C y c') si es preciso, lavando con agua caliente,
 d) se mezcla con etanol, preferiblemente con etanol del 96% o más, y a continuación con hexano; se concentra, preferiblemente a una presión de 1 - 100 mbar, y se separa la fase etanol-agua resultante,
 e) se seca y, dado el caso, se tritura
 15 f) en alcohol anhidro, preferentemente etanol,
 g) si es preciso, se filtra y se concentra, y
 h) se seca y, dado el caso, se tritura.
- 20 2. Método para preparar un extracto de frutos de cardo lechero con una tasa de liberación de silimarina del 80% y más, según la reivindicación 1, caracterizado porque en la etapa a) se extrae a 50 – 70°C.
3. Método para preparar un extracto de frutos de cardo lechero con una tasa de liberación de silimarina del 80% y más, según la reivindicación 1, caracterizado porque en la etapa f) el alcohol anhidro es un alcohol C1-C4 exento de agua.
- 25 4. Extracto de frutos de cardo lechero obtenible por un método según una de las reivindicaciones 1 hasta 3.
5. Extracto de frutos de cardo lechero obtenible por un método según una de las reivindicaciones 1 hasta 3 o extracto de frutos de cardo lechero según la reivindicación 4, constituida por una modificación cristalina amorfa cuya porción cristalina es menor del 20%, especialmente menor del 10%, sobre todo menor del 7%.
- 30 6. Extracto de frutos de cardo lechero obtenible por un método según una de las reivindicaciones 1 hasta 3 o extracto de frutos de cardo lechero según la reivindicación 4 para usar en la profilaxis y tratamiento de disfunciones hepáticas y biliares, particularmente de lesiones hepáticas tóxicas (hígado graso, alcohol), hepatitis como la intoxicación por hongos, fallo hepático agudo, necrosis hepática, distrofia hepática, cirrosis hepática, fibrosis hepática, engrosamiento y degeneración grasa del hígado, insuficiencia hepática, hepatitis, sobre todo la hepatitis C.
- 35 7. Extracto de frutos de cardo lechero obtenible por un método según una de las reivindicaciones 1 hasta 3 o extracto de frutos de cardo lechero según la reivindicación 4 para usar en caso de disfunciones hepáticas y biliares, particularmente de lesiones hepáticas tóxicas (hígado graso, alcohol), hepatitis como la intoxicación por hongos, fallo hepático agudo, necrosis hepática, distrofia hepática, cirrosis hepática, fibrosis hepática, engrosamiento y degeneración grasa del hígado, insuficiencia hepática, hepatitis, sobre todo la hepatitis C.
- 40 8. Composición farmacéutica que contiene un extracto de frutos de cardo lechero obtenible por un método según una de las reivindicaciones 1 hasta 3 o un extracto de frutos de cardo lechero según la reivindicación 4.
- 45

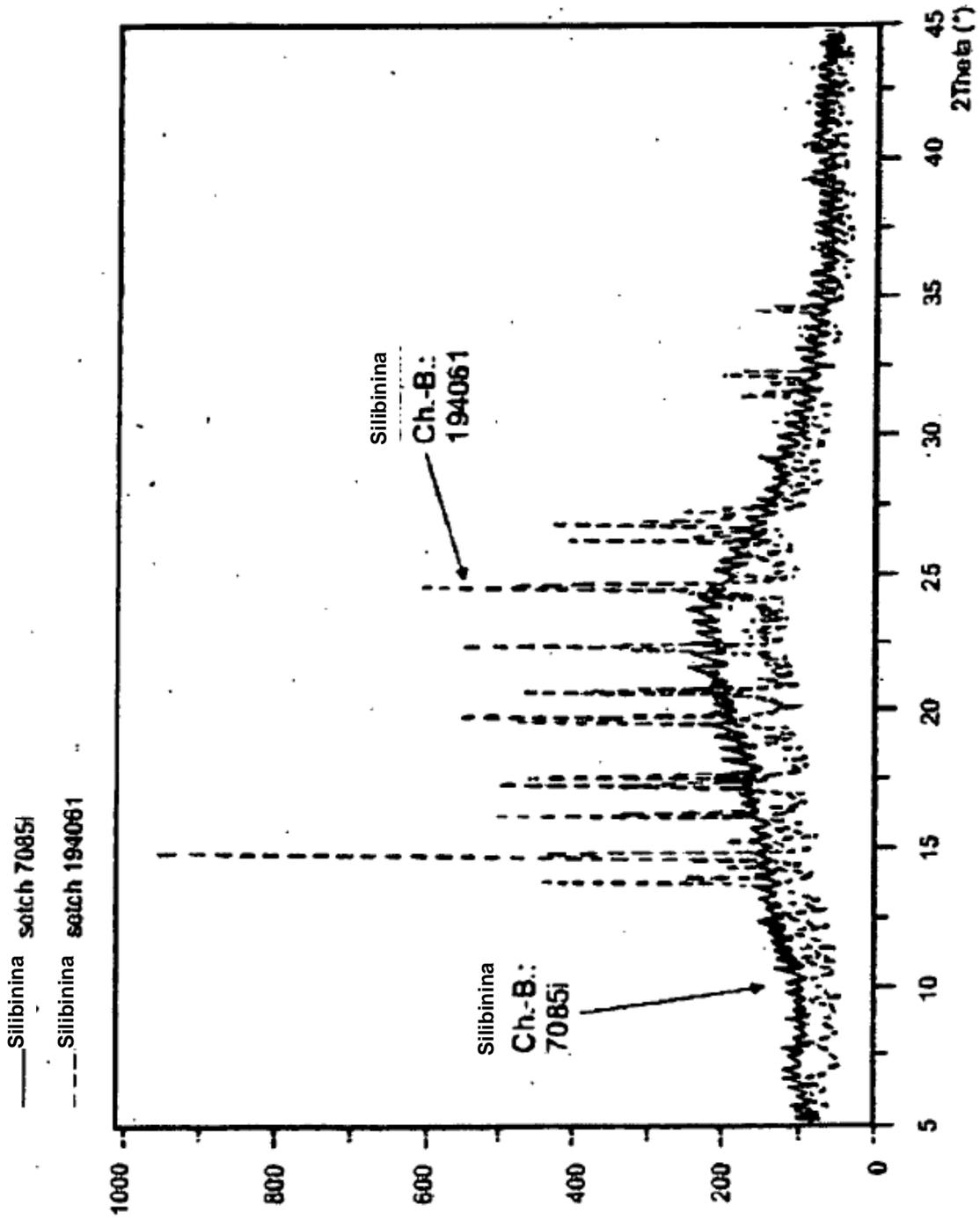


Fig. 1

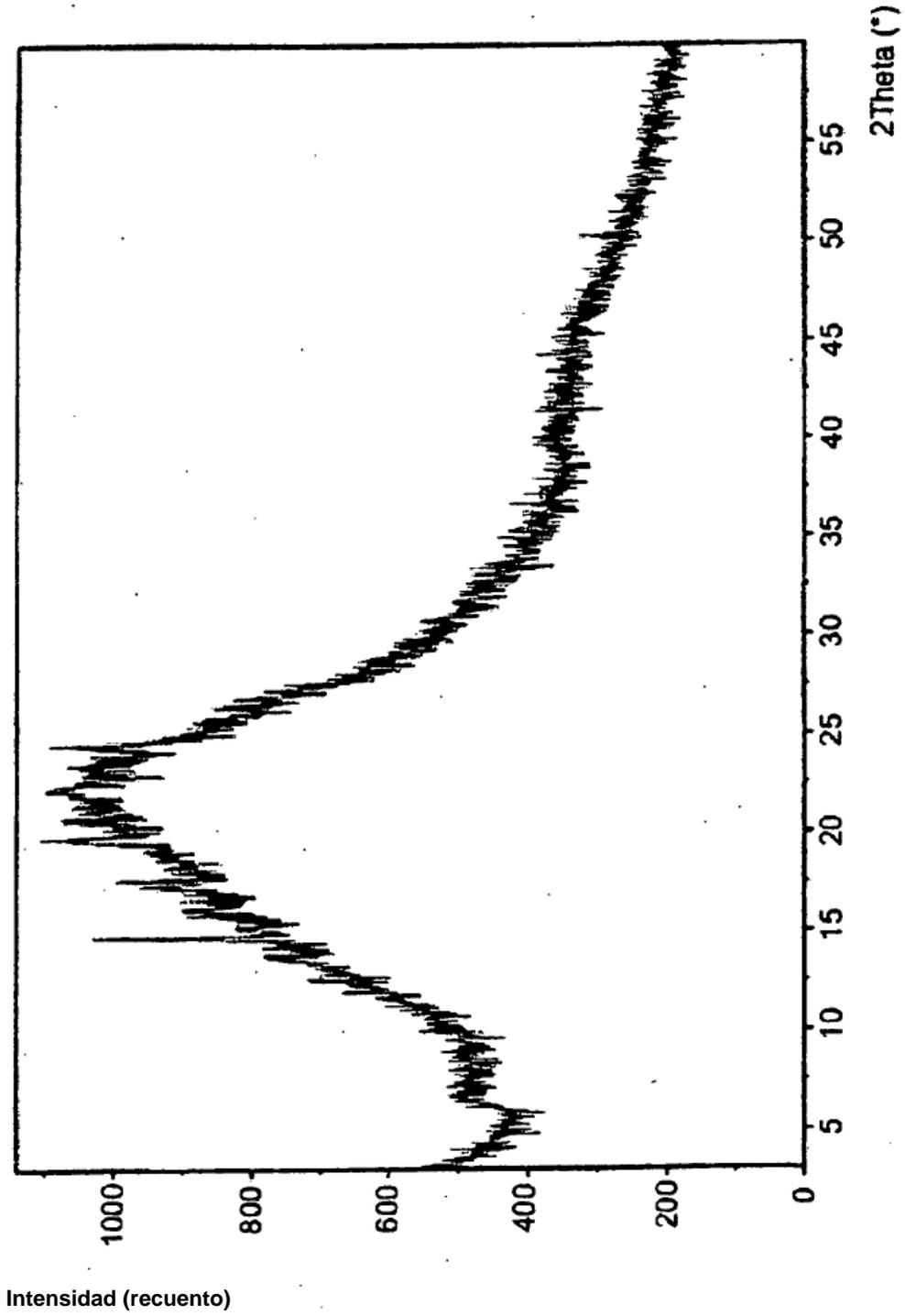


Fig. 2

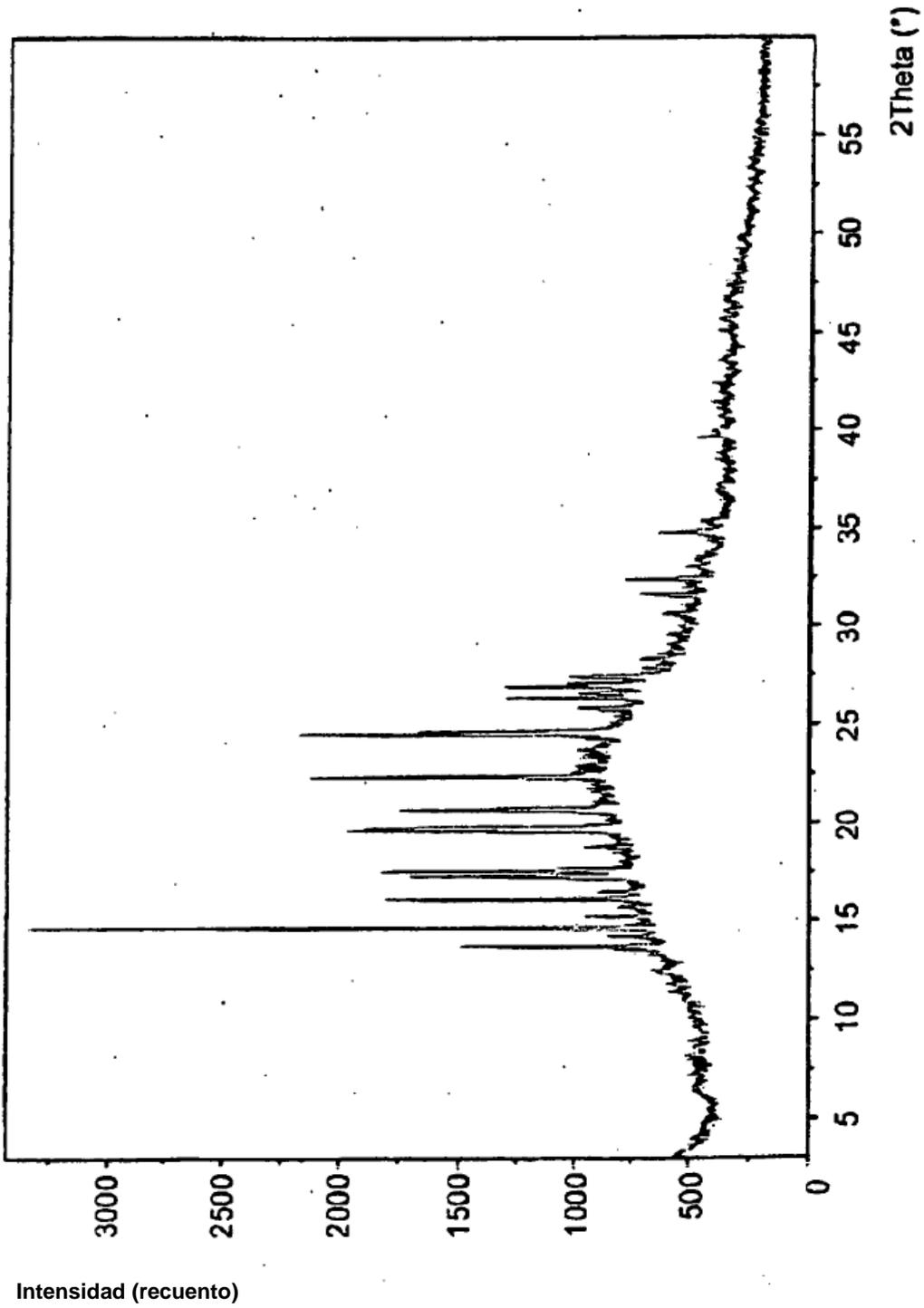


Fig. 3