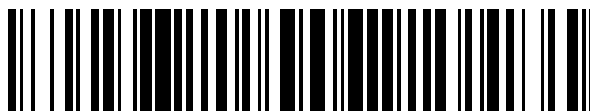


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 593 858**

51 Int. Cl.:

C07D 407/04 (2006.01)

A61K 31/357 (2006.01)

A61P 1/16 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.05.2010 PCT/EP2010/002978**

87 Fecha y número de publicación internacional: **18.11.2010 WO10130460**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.05.2010 E 10721707 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.06.2016 EP 2430017**

54 Título: **Método para preparar silibinina amorfa**

30 Prioridad:

14.05.2009 EP 09160322

18.05.2009 EP 09006663

20.05.2009 EP 09006804

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

13.12.2016

73 Titular/es:

MADAUS GMBH (100.0%)

Colonia-Allee 15

51067 Köln, DE

72 Inventor/es:

ROVATI, LUCIO, CLAUDIO;

NAGELL, ASTRID;

XIOL, AGUIRRE, JAIME;

RULL, PROUS, SANTIAGO;

POHL, RALF-TORSTEN y

MENGS, ULRICH

74 Agente/Representante:

AZNÁREZ URBIETA, Pablo

ES 2 593 858 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

Método para preparar silibinina amorfa

5 La invención se refiere a un método para preparar silibinina amorfa (o su sinónimo: silibina) derivada de un extracto del fruto del cardo mariano, que tiene una tasa de liberación aumentada y una capacidad de absorción o biodisponibilidad mejorada. Preferentemente, la silibinina amorfa está adaptada para la administración oral.

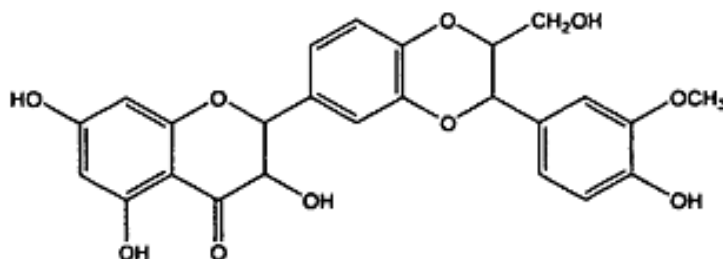
10 El cardo mariano (*Silybum marianum* o *Carduus marianus*) es una planta cultivada en particular en el suroeste y el centro de Europa (Austria, Hungría) y que se ha naturalizado en Eurasia, Norteamérica, Sudamérica y Australia. También se encuentran áreas de producción en China.

15 La silimarina está contenida en el fruto maduro seco de *Silybum marianum* (L.) *Gaertneri* (Fam. Asteraceae) al que se le ha quitado el vilano y que presenta un contenido mínimo de silimarina del 1,5% (Pharmacopoea Europaea (en adelante: Ph. Eur.), 2007). Desde la antigüedad ya se conocen tinturas (normalmente extractos alcohólicos) preparadas a partir de cardo mariano. La silimarina aislada es particularmente adecuada (por ejemplo DE 1 923 983, DE 1 767 666 (Madaus)). La eficacia del cardo mariano (semillas o frutos) en el tratamiento y la prevención de diversas formas de disfunciones hepáticas y de la vesícula biliar es conocida.

La silimarina es un complejo de flavonolignanos, es decir, polihidroxiifenilcromanonas, y se aisló por primera vez de la planta en la década de 1960 (Dissertation, Janiak Bernhard, Junio 1960, Berlin University of Applied Sciences (DE 2020407), Pelter A., Hänsel R., Tetrahedron Letters, 25, 1968.

20 La silibinina {3,5,7-trihidroxi-2-(3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)-2-(hidroximetil)-2,3-dihidrobenzo[b][1,4]-dioxin-6-il)croman-4-ona; o de acuerdo con Ph. Eur. (2R,3R)-3,5,7-trihidroxi-2-[(2R,3R)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-2-(hidroximetil)-2,3-dihidro-1,4-benzodioxin-6-il]-2,3-dihidro-4H-1-benzopiran-4-ona} es el constituyente principal de la silimarina y el flavonolignano principal extraído del cardo mariano (*Silybum marianum Gaertneri*).

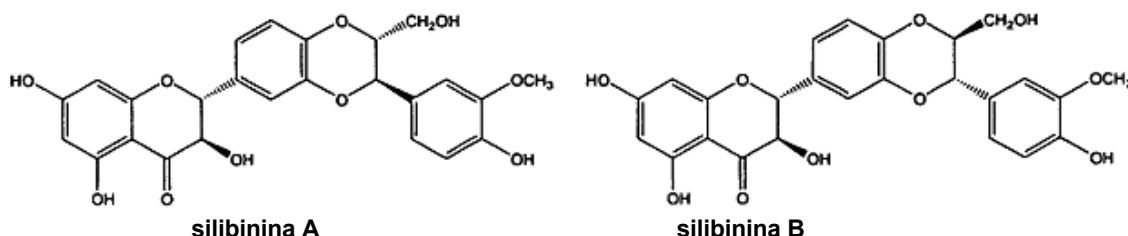
La silibinina tiene la siguiente estructura:



25

silibinina

En la literatura se distinguen los diastereoisómeros silibinina A y silibinina B:



silibinina A

silibinina B

30 La silibinina, el constituyente principal de la silimarina, está presente normalmente en una mezcla de aproximadamente 50:50 de Silibina A y Silibina B. Otros constituyentes de la silimarina incluyen isosilibinina (isosilibina A e isosilibina B), silidianina (silidianina), silicristina (silicristina), isosilicristina, taxifolina y otros, como componentes secundarios conocidos, incluyendo dehidrosilibina, 3-desoxisilicristina, desoxisilidianina (silimonina), siliadrina, silibinom, silierrina y neosilimerina. Los constituyentes principales son los cuatro flavonolignanos silibinina, silidianina y silicristina, así como isosilibinina. En estas estructuras de flavonolignano, la taxifolina está unida a un alcohol

35

coniferílico. En el estado anterior de la técnica ya se conocen métodos para aislar la silibinina (por ejemplo US 4,871,763; D. Y.-W. Lee y col., J. Nat. Prod. 2003, 66, 1171-1174).

5 Normalmente, para preparar el extracto se utilizan los frutos del cardo mariano. En el estado anterior de la técnica se han descrito extractos de este tipo y métodos para prepararlos, por ejemplo tal como se da a conocer en el documento DE 1 923 982, DE 29 14 330 (Madaus).

También se conoce un extracto seco del fruto del cardo mariano (Extr. cardui mariae fruct. siccum) obtenido a partir del fármaco vegetal utilizando, entre otros, el agente de extracción acetato de etilo, y normalizado de acuerdo con la Ph. Eur. aplicable.

10 Los requisitos establecidos para un extracto seco son un contenido preferentemente de un 30-65% en peso de silimarina (también son posibles otros intervalos), conteniendo la porción de silimarina las siguientes fracciones:

40-65% en peso: Silibinina A y B (mezcla diastereoisomérica, $C_{25}H_{22}OH_{10}$ M_w 482,4); 10-20% en peso: Isosilibinina A y B (mezcla diastereoisomérica, $C_{25}H_{22}OH_{10}$ M_w 482,4) y 20-45% en peso: Silidianina y silicristina ($C_{25}H_{22}OH_{10}$ M_w 482,4).

15 Normalmente, para preparar un extracto, la materia prima (en este caso, el fármaco vegetal) se desgrasa, se extrae, se filtra, se concentra y se purifica. Para dicha extracción continua utilizando acetato de etilo/etanol/acetona/metanol (opcionalmente en forma acuosa) o mezclas acuosas con los disolventes arriba mencionados, normalmente se realiza una filtración seguida de una concentración. Después se lleva a cabo una purificación utilizando etanol y hexano (desgrasado adicional), con lo que se obtiene el contenido de silimarina arriba mencionado. Una composición de este tipo posibilita una tasa de liberación de silimarina entre un 30% y aproximadamente un 40% (medida de acuerdo con Ph. Eur. 5.7; 2.9.3 (01/2006:20903 en su forma modificada, por ejemplo utilizando el método de cesta o paleta)).

Sin embargo, existe una gran necesidad de aumentar la tasa de liberación de silimarina, preferentemente silibinina, en el extracto nativo.

25 La silibinina es lipófila y, como tal, es muy poco soluble en líquidos acuosos. Ya es sabido que los flavonolignanos, en particular la silibinina, tienen muy poca o ninguna solubilidad en agua (la solubilidad de la silimarina pura es de aproximadamente 0,08 g/l a pH 6,9). Debido a esta característica de solubilidad, la tasa de liberación de flavonolignanos, en particular de silibinina, es inadecuada.

30 Con el fin de aumentar la tasa de liberación ya se ha intentado derivar los flavonolignanos utilizando polialcoholes, aminoazúcares o ésteres, por ejemplo, o formar complejos con los mismos utilizando compuestos tales como ciclodextrina (EP 0 422 497 B1 (Madaus)) o utilizando compuestos de formación de complejos, por ejemplo fosfatidilcolina. Sin embargo, estos complejos no son satisfactorios en todos los aspectos y existe la necesidad de medicamentos que contengan silibinina sin que requieran la presencia de complejos solubilizantes, como complejos de fosfolípidos o complejos de inclusión de ciclodextrina y que, al mismo tiempo, proporcionen suficiente biodisponibilidad de silibinina de modo que se puedan lograr los niveles plasmáticos comparativamente altos necesarios para el tratamiento de hepatitis víricas con una administración oral.

40 También se sabe del estado anterior de la técnica que la tasa de liberación se puede aumentar mediante el uso de sustancias de soporte tales como 1-vinil-2-pirrolidona, manitol y otras (EP 0 722 918 B1, US 5,906,991 (Madaus)). Además, se requieren agentes humectantes tales como polisorbatos (agentes tensioactivos). El documento EP 1 021 198 B1 (Madaus) describe un coprecipitado de silimarina con utilización de PEG. Existen ésteres de silibinina polares comerciales en forma de una solución de infusión, por ejemplo, con el nombre Legalon® SIL en la República Federal de Alemania.

45 Sin embargo, todos estos métodos tienen la desventaja de que la dosificación es más difícil y pueden surgir sustancias extrañas que pueden tener efectos secundarios definidos de forma imprecisa.

El documento L. Yu, Advanced Drug Delivery Reviews, 2001, 48, 27-42 se refiere a sólidos farmacéuticos amorfos y a su preparación, caracterización y estabilización.

50 El documento WO 2009/062737 se refiere al uso de un componente de silibinina para la producción de un medicamento adaptado para la administración parenteral para el tratamiento de hepatitis víricas, preferentemente de la hepatitis B o C, en particular para reducir la carga viral. Preferentemente, el medicamento no contiene silidianina y/o no contiene silicristina y/o no contiene isosilibinina.

El documento WO 2009/080006 se refiere a un método para producir un extracto de cardo mariano, en particular una preparación de flavonolignano, que presenta una tasa de liberación aumentada y una capacidad de reabsorción mejorada, y al uso del mismo, en particular para la terapia y la profilaxis de enfermedades hepáticas.

- 5 El documento US 4 871 763 proporciona un proceso para la preparación de silibinina esencialmente pura a partir de los frutos de *Silybum marianum* y composiciones farmacéuticas que la contienen para el tratamiento de enfermedades hepáticas.

El documento GB 2 167 414 describe derivados de silibinina útiles en composiciones farmacéuticas para el tratamiento de daños por quemaduras, daños hepáticos o envenenamiento por hongos.

- 10 El documento de J.Q. Zhang y col., *Drug Delivery*, 2007, 14(6), 381-7, se refiere a la preparación y caracterización de nanopartículas de lípido sólidas que contienen silibinina.

El documento de N. Graf Tyler y col., *Plant Medica*. 2007, 73(14), 1495-1501, se refiere a una purificación a escala de gramos de diastereómeros de flavonolignano de extracto de *Silibum marianum* en apoyo de estudios preclínicos *in vivo* de la quimiopreención del cáncer de próstata.

- 15 El documento de K. Mayer y col., *J Viral Hepatitis*, 12(6), 2005, 559-567, es un examen sistemático del tratamiento de hepatitis víricas con silimarina.

El documento de M. L. Chavez, *J Herb. Pharmacother.*, 1(3), 2001, 79-90, se refiere al tratamiento de la hepatitis C con cardo mariano.

Un objeto de la presente invención es proporcionar una silibinina con una biodisponibilidad mejorada.

- 20 Este objeto se logra mediante la materia de las reivindicaciones de la patente.

Un primer aspecto de la invención se refiere a un proceso para obtener silibinina basado en el hecho de que la silibinina es el compuesto terapéuticamente más activo de la mezcla de cualquier extracto de cardo mariano.

- 25 El objeto se resuelve mediante el siguiente proceso para obtener y/o enriquecer silibinina amorfa, que comprende los siguientes pasos:

- A.) el fármaco vegetal, es decir, la silibinina contenida en las plantas y semillas naturales respectivamente, se extrae con un disolvente que tiene una polaridad moderada (preferentemente con un momento dipolar inferior a 2 Debye, por ejemplo acetato de etilo, etanol, metanol, que opcionalmente contienen fracciones acuosas), preferiblemente a 40 - 80°C, de forma particularmente preferente 50 - 70°C;
- 30 B.) se separa, preferentemente se filtra;
- C.) se concentra, preferentemente bajo vacío con agitación, a una temperatura inferior a 60°C, preferiblemente inferior a 40°C, y opcionalmente se lava con agua caliente;
- D.) se combina con etanol o un disolvente prótico que tiene un momento dipolar inferior a 2, preferentemente se ajusta a un contenido de agua de 130 - 180 g/l y después se combina con hexano o un disolvente de polaridad similar y se concentra, preferiblemente bajo vacío, y la fase de hexano se retira;
- 35 E.) se concentra, preferentemente a una temperatura inferior a 65°C;
- F.) se separa, preferentemente se filtra;
- G.) la fase sólida se combina con etanol o un disolvente prótico que tiene un momento dipolar inferior a 2, preferentemente se ajusta a un contenido de agua de 130 - 180 g/l;
- 40 H.) se añade al menos un adsorbente, preferiblemente carbono activado;
- I.) se separa, preferentemente se filtra, preferiblemente a una temperatura inferior a 80°C, de forma especialmente preferente de 50 - 60°C, y se concentra y cristaliza;

- J.) se separa, preferentemente se filtra, y en caso necesario se repiten los pasos G, I, J.) para enriquecer la silibinina con un contenido de más de un 95% en peso;
- K.) opcionalmente se filtra, se lava, se seca, preferentemente bajo vacío, y en caso necesario se repiten estos pasos, y opcionalmente se tritura;
- 5 L.) se combina con un alcohol anhidro, preferentemente etanol, preferiblemente se ajusta a una concentración del 2 al 12% en peso con respecto al material seco, opcionalmente se agita, se somete a reflujo, se enfría y se filtra;
- M.) se seca, opcionalmente se tritura, se somete a secado posterior y se homogeneiza;
- 10 a) se introduce en un secador atmosférico (secador por pulverización) a una temperatura de entrada preferente entre 180°C y 200°C y una temperatura de salida preferente entre 80°C y 120°C, para obtener un polvo seco con un contenido de etanol preferentemente de alrededor de un 5% y un contenido de agua preferentemente menor de un 1%; o
- 15 b) se concentra a un máximo de un 20% de residuo seco y después se seca directamente en el reactor, preferentemente a una temperatura inferior a 80°C, de forma especialmente preferente a 50 - 60°C, bajo vacío, para obtener un polvo seco; preferentemente, el producto seco se somete a secado posterior, en caso necesario a una temperatura máxima de 80°C y una presión máxima de 40 mbar.

20 Sorprendentemente, el paso L.) conduce a un aumento significativo de la tasa de liberación de silibinina (solubilidad) porque se obtiene una nueva silibinina amorfa. Esto resulta particularmente ventajoso, ya que se logra una dosificación más baja de silibinina, aislada o enriquecida de acuerdo con la invención y se aumenta la biodisponibilidad o capacidad de absorción. Otra ventaja es que se alcanza una calidad que en el estado anterior de la técnica sólo se puede lograr utilizando aditivos, complementos, sustancias de soporte y agentes humectantes.

25 Sorprendentemente se ha comprobado que el grado del carácter amorfo de la silibinina obtenida mediante el método de la invención es muy alto, normalmente muy superior al 90% en peso. Esto resulta particularmente ventajoso, ya que si la pureza amorfa es menor del 90% (es decir, si el contenido de silibinina cristalina es mayor del 10%), la estabilidad del estado amorfo se ve comprometida, ya que tiende a cristalizar a corto plazo. La vida útil de almacenamiento disminuiría, dado que, si la silibinina amorfa cristaliza durante el almacenamiento, el material cristalino ya no sería soluble y por tanto no tendría biodisponibilidad. Los ensayos preliminares en relación con el contenido mínimo de silibinina cristalina que pone en riesgo la estabilidad del producto han dado como resultado valores entre aproximadamente un 10 y aproximadamente un 20%, dependiendo de la humedad relativa.

Las Figuras adjuntas a la solicitud muestran lo siguiente:

- 35 Figura 1 A: Silibinina cristalina estándar.
 Figura 1 B: Silibinina amorfa estándar.
 Figura 2 A: DSC de silibinina cristalina estándar.
 Figura 2 B: DSC de silibinina amorfa estándar.
 Figura 2 C: DSC de mezclas de: 10, 25, 35, 50, 60, 75 y 100% de silibinina cristalina estándar en silibinina amorfa estándar.
- 40 Figura 3 A: Espectro ZnO XRPD.
 Figura 3 B: Picos con referencias para evaluación cuantitativa de XRPD.
 Figura 3 C: Espectros XRPD de mezclas estándar 1-8.
 Figura 4: Diagrama de calibración de XRPD cuantitativo.
- 45 Figura 5 A: Espectro XRPD de un 0,25% de silibinina cristalina en silibinina amorfa.
 Figura 5 B: Espectro XRPD de un 0,50% de silibinina cristalina en silibinina amorfa.
 Figura 5 C: Espectro XRPD de un 1,0% de silibinina cristalina en silibinina amorfa.
 Figura 6: Espectro XRPD de un lote representativo de silibinina amorfa.
 Figura 7: Espectro XRPD de un lote representativo de silibinina obtenido de acuerdo con el proceso sin los pasos L y M.
- 50 Figura 8 A: Espectros XRPD de silibinina amorfa pura después de almacenamiento a 4, 25 y 40°C durante 2 meses.
 Figura 8 B: Espectros XRPD de mezcla de silibinina 10% cristalina-amorfa al principio y después de almacenamiento a 25°C durante 2 meses.

55 En el paso A.) del método de acuerdo con la invención se extrae silibinina con un disolvente que tiene una polaridad moderada (por ejemplo acetato de etilo, etanol, metanol, que opcionalmente contienen fracciones acuosas), preferiblemente a 40 - 80°C, de forma particularmente preferente 50 - 70°C.

El material de partida preferentemente es cardo mariano o una parte del mismo, por ejemplo los frutos. Los especialistas saben que puede resultar útil triturar el material de partida antes de la extracción para facilitar y acelerar la liberación de silibinina. Por tanto, antes de la extracción, el material de partida, preferentemente frutos de cardo mariano, preferiblemente se somete a un tratamiento previo, preferentemente se somete a un desgrasado previo mecánico. Preferentemente, los frutos de cardo mariano se separan mecánicamente de materiales extraños y partes metálicas, por ejemplo tamizándolos a través de un tamiz de 1 cm y utilizando a continuación un separador magnético. Después, los frutos de cardo mariano preferiblemente se muelen con un molino que incluye múltiples rodillos. La trituración y prensado se lleva a cabo preferentemente a temperatura ambiente y a una presión de al menos 50 bar, por ejemplo 65 bar. Después, los frutos de cardo mariano parcialmente desgrasados preferiblemente se calientan en un transportador helicoidal a una temperatura de 40 - 50°C. El rendimiento de este paso de método preferente es variable y depende del tipo y el contenido de aceite de los frutos.

A continuación, el fármaco (silibinina), preferentemente sometido a desgrasado previo, se introduce preferiblemente en percoladores y se extrae con el disolvente de polaridad moderada, preferentemente acetato de etilo, preferiblemente a una temperatura de entrada de 62°C y 66°C. La extracción se lleva a cabo preferentemente de forma continua. Después de la extracción, el agua contenida en los frutos de cardo mariano enriquece con el tiempo el contenido de agua del disolvente de extracción consistente en acetato de etilo. Preferentemente, el contenido máximo de agua no sobrepasa 35 g/l y en caso necesario se puede llevar a cabo un ajuste con acetato de etilo. Los contenidos de agua se pueden determinar mediante titulación de Karl Fischer (Método: Ph. Eur. 2.5.32 - Microdeterminación de agua).

Normalmente, el paso A.) no proporciona silibinina pura, sino más bien una mezcla compleja de constituyentes contenidos originalmente en el material de partida, que incluye silibinina. Dicha mezcla compleja, es decir, el producto intermedio obtenido en el paso A.) se somete a continuación al paso B.). El paso A.) normalmente proporciona un sistema heterogéneo que comprende el material de partida y el disolvente, mientras que algunos constituyentes del material de partida, entre ellos la silibinina, se han disuelto al menos en parte en el disolvente (extracto).

En el paso B.) del método de acuerdo con la invención, el producto intermedio obtenido en el paso A.) se separa, preferentemente de los sólidos, preferiblemente por filtración. Dicho de otro modo, en el paso B.), la fase líquida se separa del residuo sólido. Preferiblemente, con el fin de eliminar partículas de fármaco residuales, la mezcla obtenida se filtra a través de un filtro GAF (25 - 50 µm). La mezcla obtenida es preferentemente transparente (control visual). A continuación, la fase líquida, es decir, el extracto, se somete al paso C.).

En el paso C.) del método de acuerdo con la invención, el producto intermedio obtenido en el paso B.) se concentra, preferentemente bajo vacío con agitación, a una temperatura inferior a 60°C, preferiblemente inferior a 40°C, y opcionalmente se lava con agua caliente. En una realización preferente, durante la concentración se elimina todo o prácticamente todo el disolvente. Para eliminar la mayor cantidad posible de acetato de etilo, las impurezas solubles en agua y el aceite de cardo mariano, el concentrado previo, preferentemente se concentra bajo vacío con agitación a una temperatura ≤ 40°C en un recipiente con agua. Preferiblemente, las fases formadas en el reactor se separan por decantación. Si se lleva a cabo un lavado con agua caliente, éste se puede realizar por ejemplo sobre un filtro o una frita de vidrio. El lavado se puede llevar a cabo para eliminar componentes solubles en agua de la parte restante. El precipitado se lava preferentemente con un exceso de agua caliente. Preferiblemente, la temperatura de agua a la entrada es de 70 - 80°C. El agua en exceso preferentemente se aspira.

En el paso D.) del método de acuerdo con la invención, el producto intermedio obtenido en el paso C.), es decir, el residuo lavado, se combina con etanol o un disolvente de polaridad similar, preferentemente ajustado a un contenido de agua de 130 - 180 g/l, y después se combina con hexano o un disolvente de polaridad similar y se concentra, preferiblemente bajo vacío, y la fase de hexano se retira.

En el primer paso se prepara una solución que tiene preferentemente 8 - 100 g/l de residuo seco, disolviendo la torta resultante en etanol o un disolvente de polaridad similar de acuerdo con la solubilidad del contenido (contenido de agua preferente 130 - 180 g/l). Después, preferiblemente se calienta hasta reflujo. En cuanto se obtiene la solución, preferentemente se enfría a < 30°C. La solución se ajusta preferentemente con agua o disolvente (por ejemplo etanol) para alcanzar el contenido de agua deseado (titulación Karl Fischer, Método: Ph. Eur. 2.5.32 - Microdeterminación de agua).

En el segundo paso, la solución en disolvente (por ejemplo solución en etanol) preferiblemente se desgrasa con hexano. Por tanto, la solución en etanol preferentemente primero se satura con hexano y después, para eliminar los componentes no disueltos, preferiblemente se centrifuga en un separador de cámaras y se filtra a través de un filtro de placa. El desgrasado se lleva a cabo preferentemente en una columna de partición en

contracorriente con hexano. Preferentemente, la solución en etanol se filtra a través de un filtro de mangas de 5 μm . Preferiblemente, el hexano de la fase de hexano se retira por destilación. El residuo oleoso preferentemente se desecha.

5 En el paso E.) del método de acuerdo con la invención, el producto intermedio obtenido en el paso D.) se concentra, preferentemente a una temperatura inferior a 65°C. Preferiblemente, la fase de etanol filtrada se concentra en un reactor a una temperatura máxima de 65°C bajo vacío y con agitación hasta obtener un 35 - 45% de residuo seco.

10 En el paso F.) del método de acuerdo con la invención, el producto intermedio obtenido en el paso E.) se separa, preferentemente se filtra. Preferiblemente, el concentrado se filtra a través de un filtro de prensa de membrana. Hay dos fases: el filtrado en pasta y el líquido. La pasta se utiliza en los siguientes pasos.

En el paso G.) del método de acuerdo con la invención, el producto intermedio obtenido en el paso F.), es decir, la fase sólida (pasta), se combina con etanol o un disolvente de polaridad similar, preferentemente ajustado a un contenido de agua de 130 - 180 g/l. Preferiblemente se prepara una solución que tiene 5 - 10 g/l de residuo seco disolviendo la pasta en etanol (contenido de agua 130 - 180 g/l).

15 En el paso H.) del método de acuerdo con la invención, al producto intermedio obtenido en el paso G.) se le añade al menos un adsorbente, preferentemente carbono activado. Preferiblemente, después de disolver la pasta, a esta solución se le añade aproximadamente un 2% de carbono activado, calculado en relación con la sustancia seca, y el líquido se somete a reflujo para lograr un buen efecto de mezcla.

20 En el paso I.) del método de acuerdo con la invención, el producto intermedio obtenido en el paso H.) se separa, preferentemente se filtra, preferiblemente a una temperatura inferior a 80°C, de forma especialmente preferente 50-60°C, y se concentra y cristaliza. Preferentemente, el producto se filtra a una temperatura entre 50 y 60°C través de un filtro de placa y se pasa a la concentración. Preferentemente, la temperatura de concentración es $\leq 65^\circ\text{C}$, bajo vacío, hasta que se obtiene un residuo seco de un 35 - 45% y después el concentrado preferiblemente se enfría a $\leq 3^\circ\text{C}$ y preferentemente se cristaliza.

25 En el paso J.) del método de acuerdo con la invención, el producto intermedio obtenido en el paso I.) se separa, preferentemente se filtra, y en caso necesario se repiten los pasos G, I, J.) para enriquecer la silibinina con un contenido superior a un 95% en peso. Preferentemente, después de enfriar el producto, éste pasa a través de un filtro de prensa de membrana para separar el sólido del líquido residual. Después se puede tomar una muestra para determinar el contenido de silibinina. Si este contenido es $< 95\%$ y la suma de isosilibinina, silidianina y silicristina es $> 1\%$, el proceso preferentemente vuelve al punto G.) sin añadir carbono activado, hasta obtener un contenido de silibinina $\geq 95\%$ y una suma de isosilibinina, silidianina y silicristina $\leq 1\%$. La determinación se puede llevar a cabo utilizando un método de cromatografía líquida en fase inversa de acuerdo con la Ph. Eur.

30

35 En el paso K.) del método de acuerdo con la invención, el producto intermedio obtenido en el paso J.) opcionalmente se filtra, se lava, se seca, preferentemente bajo vacío, y en caso necesario se repiten estos pasos y se tritura. Preferentemente, la sustancia se lava con agua fría. Preferiblemente, el secado del producto se lleva a cabo en una secadora de vacío, preferentemente bajo una presión de 70 a 1 mbar y a una temperatura máxima de la camisa de secador $\leq 80^\circ\text{C}$. El extracto seco preferentemente se tritura previamente en un tamiz de 1 mm.

40 En el paso L.) del método de acuerdo con la invención, el producto intermedio obtenido en el paso K.) se combina con un alcohol anhidro, preferentemente etanol, opcionalmente se agita, se somete a reflujo, se enfría y se concentra, preferentemente a una temperatura inferior a 80°C, de forma especialmente preferente 50 - 60°C, bajo vacío. Preferentemente, la silibinina previamente triturada se disuelve en etanol $\geq 99,5\%$ (VN) hasta obtener un 2% - 10% de residuo seco. Preferiblemente, la solución se calienta a reflujo en un reactor provisto de agitación e inmediatamente después se enfría, preferentemente a una temperatura de aproximadamente 40°C. Después de enfriar, el producto se filtra preferentemente a través de un filtro de placa y se introduce lentamente en otro reactor, donde preferentemente se concentra a $\leq 65^\circ\text{C}$ bajo vacío y con agitación hasta obtener un concentrado a modo de jarabe.

45

50 En una realización preferente, el paso L.) se lleva a cabo hasta que el contenido residual de agua/etanol no es superior al 25% en peso, 22,5% en peso, 20% en peso, 17,5% en peso, 15% en peso, o no superior al 12,5% en peso. En otra realización preferente, el paso L.) se lleva a cabo hasta que el contenido residual de agua/etanol no es superior al 10% en peso, 9,5% en peso, 9,0% en peso, 8,5% en peso, 8,0% en peso, 7,5% en peso, 7,0% en peso, 6,5% en peso, 6,0% en peso, 5,5% en peso, 5,0% en peso, 4,5% en peso, 4,0% en peso, 3,5% en peso, 3,0% en peso o no superior al 2,5% en peso. En otra realización preferente más, el paso

55 L.) se lleva a cabo hasta que el contenido residual de agua/etanol no es superior al 2,4% en peso, 2,3% en

peso, 2,2% en peso, 2,1% en peso, 2,0% en peso, 1,9% en peso, 1,8% en peso, 1,7% en peso, 1,6% en peso, 1,5% en peso, 1,4% en peso, 1,3% en peso, 1,2% en peso, 1,1% en peso, 1,0% en peso, 0,9% en peso, 0,8% en peso, 0,7% en peso, 0,6% en peso, 0,5% en peso, 0,4% en peso, 0,3% en peso, 0,2% en peso o no superior al 0,1% en peso.

- 5 En el paso M.) del método de acuerdo con la invención, el producto intermedio obtenido en el paso L.) se seca, opcionalmente se tritura, se muele y se homogeneiza. Preferentemente, el secado final de la sustancia se lleva a cabo en una secadora de vacío, preferentemente bajo una presión de 70 a 1 mbar (temperatura de la camisa de secador preferentemente $\leq 80^{\circ}\text{C}$) o una secadora de pulverización (por ejemplo, temperatura de entrada = 200°C , temperatura de salida 100 - 150°C). Preferentemente, el extracto seco se tritura
10 previamente a través de un tamiz de 2 mm. Después, el producto preferentemente se muele en un molino de púas alimentado con nitrógeno para obtener un polvo fino. Por último, el producto molido preferiblemente se mezcla en un cono, por ejemplo durante 2 horas.

- 15 Los pasos G., I., J.) se pueden repetir para enriquecer o aislar silibinina amorfa, enriqueciéndose/obteniéndose o aislándose la silibinina con un contenido de más de un 95% (en peso), preferentemente un 100% (en peso), preferiblemente por medio de uno o más adsorbentes (véase el paso H), por ejemplo carbono activado o similar), en adelante "silibinina de acuerdo con la invención".

El concepto "alcohol anhidro" en el paso L.) incluye preferentemente alcoholes $\text{C}_1\text{-C}_4$, de forma particularmente preferente etanol, con una pureza de un 99% o incluso un 99,5%.

- 20 Dentro del alcance de la presente invención, el concepto "silimarina" se refiere a una mezcla de sustancias que contiene (al menos) las cuatro sustancias silibinina, silidianina, silicristina e isosilibinina en diversas concentraciones. La proporción de estas sustancias entre sí y la presencia de sustancias adicionales en la mezcla no son importantes. No obstante, es preferible que estas sustancias cumplan los requisitos de la Ph. Eur.

- 25 El concepto "tasa de liberación de silibinina de un 80% o más" significa que la silibinina amorfa es soluble al menos en un 80% en solución acuosa (estándar de acuerdo con Ph. Eur.).

Esto resulta ventajosamente en una capacidad de absorción y biodisponibilidad mejoradas.

- 30 Preferentemente, la silibinina amorfa que se puede obtener mediante el método de acuerdo con la invención tiene un grado de carácter amorfo de al menos un 95% en peso, de forma especialmente preferente al menos un 96% en peso, de forma todavía más preferente al menos un 97% en peso, de forma totalmente preferente al menos un 98% en peso y el particular al menos un 99% en peso. Dicho de otro modo, el producto amorfo que se puede obtener mediante el método de acuerdo con la invención tiene preferentemente un contenido de silibinina cristalina de como máximo un 5% en peso, de forma especialmente preferente como máximo un 4% en peso, de forma todavía más preferente como máximo un 3% en peso, de forma totalmente preferente como máximo un 2% en peso y en particular como máximo un 1% en peso. Los especialistas conocen
35 perfectamente métodos adecuados para determinar el grado de carácter amorfo, por ejemplo XRPD cuantitativa.

- 40 El método según la invención está previsto para preparar de silibinina amorfa. El método de la invención no es un método químico de síntesis para preparar silibinina amorfa a partir de componentes en bloque adecuados, sino un procedimiento de aislamiento físico previsto para obtener el fármaco silibinina, que ya está contenida en el material de partida (preferentemente frutos de cardo mariano), con la mayor pureza posible y convertirla en un estado amorfo.

- 45 Los especialistas saben que los extractos de fuentes naturales normalmente no son totalmente puros (100,00%). Más bien, dependiendo de la eficiencia de los pasos de purificación individuales, el producto final puede seguir presentando cantidades menores de impurezas. En este contexto se puede considerar que el método de acuerdo con la invención puede estar previsto para preparar un extracto de frutos de cardo mariano, siendo provisto el extracto en un estado amorfo e incluyendo un alto contenido de silibinina.

- 50 Sorprendentemente resulta que la silibinina y sus sales farmacéuticamente tolerables se pueden proporcionar en una modificación esencialmente amorfa que es adecuada para el tratamiento de enfermedades hepáticas víricas inflamatorias, preferentemente hepatitis víricas, en particular hepatitis C. Resulta que se pueden proporcionar dosis de silibinina terapéuticamente eficaces mediante la administración oral de silibinina amorfa, aunque la vía de administración oral se diferencia esencialmente de la vía de administración parenteral, por ejemplo con respecto al metabolismo en el primer paso y similares.

Es sabido que la silibinina presenta un efecto de primer paso pronunciado.

El efecto de primer paso (también conocido como metabolismo de primer paso o metabolismo presistémico) es un fenómeno del metabolismo de fármacos en el que la concentración de un fármaco se reduce en gran medida antes de que éste llegue a la circulación sistémica. La fracción de fármaco perdido durante el proceso de absorción es la que generalmente está relacionada con el hígado y la pared intestinal. Después de ingerir un fármaco, éste es absorbido por el sistema digestivo y entra en el sistema portal hepático. Es transportado a través de la vena porta hasta el hígado, órgano diana terapéutico, antes de llegar al resto del cuerpo. El hígado metaboliza muchos fármacos, en ocasiones hasta tal punto que únicamente una pequeña cantidad del fármaco activo sale del hígado al resto del sistema circulatorio. Algunas vías de administración alternativas, como las vías rectal, intravenosa, intramuscular y sublingual, evitan el efecto de primer paso, ya que permiten que los fármacos sean absorbidos directamente en la circulación sistémica.

Sin embargo, parece que, sorprendentemente, aunque sea sometida a un extenso metabolismo de primer paso, la biodisponibilidad de la silibinina amorfa es suficientemente alta para proporcionar niveles plasmáticos efectivos contra hepatitis virales con una administración oral de dosis comparativamente altas sin provocar efectos secundarios graves.

Además, sorprendentemente se ha comprobado que es posible obtener silibinina esencialmente amorfa en una forma esencialmente pura a partir de extracto de cardo mariano mediante un método particular, y que ésta se puede procesar directamente en composiciones farmacéuticas y formas de dosificación sin ninguna purificación ni enriquecimiento adicionales.

Por consiguiente, por ejemplo en pacientes de hepatitis C que no responden (es decir, los pacientes designados como "no respondedores") a la terapia de combinación inmunomoduladora/antivírica tal como PEG interferón/ribavirina, que constituye el tratamiento estándar actual para la hepatitis C, así como en pacientes de trasplante de hígado, se puede lograr una reducción significativa de la carga viral mediante la administración, preferentemente mediante la administración oral, de silibinina amorfa. Adicionalmente resulta que el tratamiento previo con silibinina amorfa mejora la respuesta de los pacientes a la administración posterior de interferón y ribavirina.

Además, sorprendentemente se ha comprobado que después de la administración de silibinina se puede evitar con éxito una reinfección de hepatitis viral en pacientes que van a ser o que han sido sometidos a un trasplante de hígado. A este respecto, U.P. Neumann, M. Biermer, D. Eurich, P. Neuhaus, T. Berg, en "*Successful prevention of hepatitis C virus (HCV) liver graft reinfection by silibinina mono-therapy*", Journal of Hepatology, 2010, informan sobre la primera prevención con éxito de reinfección por VHC después de un trasplante ortotópico de hígado (*orthotopic liver transplantation* - OLT) mediante la administración de silibinina.

Esto es particularmente importante porque estos pacientes de trasplante necesitan tomar otros medicamentos para suprimir su respuesta inmunitaria después del trasplante de hígado. Dichos otros medicamentos, debido a sus efectos secundarios no deseados, hacen que estos pacientes toleren menos y sean menos susceptibles a las terapias de la hepatitis C convencionales. Sin embargo, ahora se ha comprobado sorprendentemente que los efectos adversos de la silibinina son tan débiles y poco frecuentes que ésta puede ser administrada a estos pacientes en una dosis suficiente que previene la reinfección vírica del hígado trasplantado.

Preferentemente, para los fines de la especificación, "amorfo" significa no cristalino. Los especialistas conocen perfectamente métodos analíticos adecuados para distinguir la modificación amorfa de silibinina de modificaciones cristalinas de silibinina, por ejemplo difracción de rayos X.

Preferentemente, la silibinina amorfa no está presente en forma de nanopartículas. Preferiblemente, el tamaño de medio de las partículas de silibinina amorfa está por encima del límite que distingue las micropartículas de las nanopartículas. Las nanopartículas no sólo son desventajosas por su método de producción, normalmente laborioso, sino que con cierta frecuencia las nanopartículas tienen efectos negativos debido a su propio tamaño como nanopartícula. Por tanto, de acuerdo con la presente invención preferiblemente se deben evitar las nanopartículas.

Para los fines de la especificación, el término "silibinina" preferentemente se refiere tanto al compuesto libre como a sus sales farmacológicamente aceptables. Por tanto, el concepto "silibinina amorfa" se refiere tanto a silibinina libre amorfa como a sales amorfas de silibinina. Preferentemente, al silibinina está presente en su forma libre, es decir no en forma de sal.

Además, para los fines de la especificación, el término "silibinina" preferentemente se refiere a silibinina, incluyendo todos sus estereoisómeros, por ejemplo silibinina A y silibinina B, y sus sales farmacológicamente

aceptables. Sin embargo, el término "silibinina" preferentemente no abarca derivados de silibinina tales como ésteres de silibinina.

- La silibinina A se puede mezclar con silibinina B en cualquier proporción en peso relativa, por ejemplo 50±5:50±5. Sin embargo, en una realización preferente, el exceso diastereomérico de silibinina A es de al menos un 50%de, de forma especialmente preferente al menos un 75%de, de forma todavía más preferente al menos un 90%de, de forma incluso más preferente al menos un 95%de, de forma totalmente preferente al menos un 98%de y en particular al menos un 99%de. En otra realización preferente, el exceso diastereomérico de silibinina B es de al menos un 50%de, de forma especialmente preferente al menos un 75%de, de forma todavía más preferente al menos un 90%de, de forma incluso más preferente al menos un 95%de, de forma totalmente preferente al menos un 98%de y en particular al menos un 99%de.

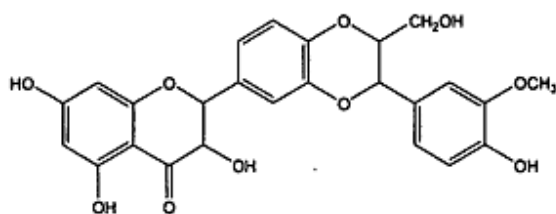
- El contenido de silibinina amorfa en la composición farmacéutica puede ser de al menos un 80% en peso, basado en el peso total de la silibinina contenida en la misma. Por consiguiente, si por ejemplo la composición farmacéutica contiene un 87% en peso de silibinina amorfa, el 13% en peso restante consistirá en silibinina cristalina. Preferentemente, el contenido de silibinina amorfa en la composición farmacéutica es de al menos un 85% en peso, de forma especialmente preferente al menos un 90% en peso, de forma todavía más preferente al menos un 92% en peso, de forma incluso más preferente al menos un 94% en peso, de forma totalmente preferente al menos un 96% en peso y en particular al menos un 98% en peso, basado en el peso total de la silibinina contenida en la misma. En una realización particularmente preferente, la cantidad total de silibinina contenida en la composición farmacéutica es silibinina amorfa esencialmente pura, es decir, un 100% en peso de silibinina amorfa y prácticamente nada de silibinina cristalina.

En una realización preferente, la composición no contiene esencialmente nada de silidianina y/o nada de silicristina y/o nada de isosilibinina. Así, la composición farmacéutica según la invención se debe distinguir de aquellas composiciones que contienen silimarina, es decir, el extracto de cardo mariano que contiene una cantidad bastante grande de compuestos diferentes.

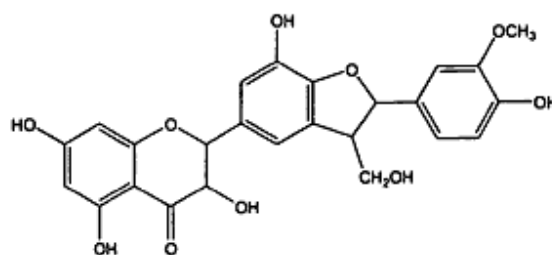
- Preferentemente, aparte de la silibinina, la composición farmacéutica no contiene ninguno de los constituyentes de la silimarina, ni en modificación amorfa ni en modificación cristalina.

- Parece que estos otros constituyentes de la silimarina también tienen un efecto fisiológico (por ejemplo, pueden provocar efectos secundarios), pero que, en relación con el tratamiento de hepatitis víricas, la silibinina (o sus análogos) es la más eficaz, en particular para reducir la carga viral. Por tanto, cuando se administra silimarina, es decir, una mezcla de silibinina, silidianina, silicristina, isosilibinina y otros constituyentes, la dosis global de silimarina debe ser relativamente alta para suministrar una cantidad particular de silibinina. Por ejemplo, si la silimarina contiene un 42% en peso de silibinina, la administración de 125 mg de silimarina sólo proporciona aproximadamente 52 mg de silibinina y aproximadamente 73 mg de otros compuestos que también tienen un efecto fisiológico (pero no el efecto deseado). El riesgo de efectos secundarios no deseados aumenta con la dosis de una silibinina fisiológicamente amorfa. Por consiguiente, en lo que respecta al perfil de efectos secundarios no deseados, la administración de 52 mg de silibinina esencialmente pura es superior a la administración de 125 mg de silimarina con un contenido de silibinina de un 42% en peso (véase T. Ding y col., "Determination of active component in silymarin by RP-LC and LC/MS", J. Pharm. Biomed. Anal. 2001, 26(1), 155-161).

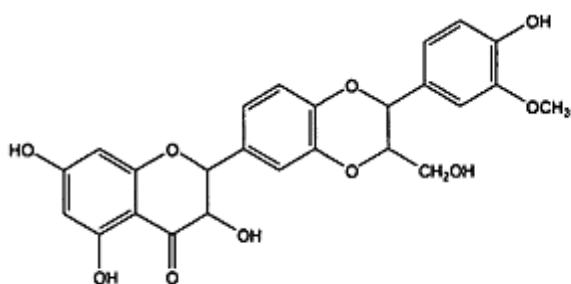
- A continuación se muestran las estructuras de la silibinina (silibina), silidianina, silicristina e isosilibinina (isosilibina), véase D.Y.-W. Lee y col., J. Nat. Prod. 2003, 66, 1171-4; N.-C. Kim et al., Org. Biomol. Chem., 2003, 1, 1684-9):



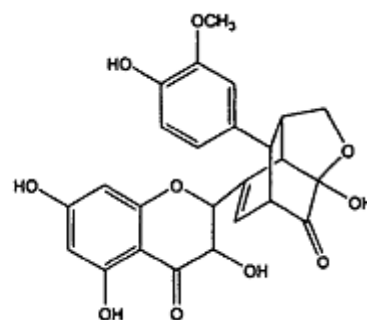
silibinina



silicristina



isosilibinina



silidianina

La silibinina de acuerdo con la invención se puede suministrar en forma de preparaciones farmacéuticas en unidades de dosificación. Esto significa que la preparación se puede presentar en forma de porciones individuales, por ejemplo tabletas, grageas, cápsulas, píldoras, supositorios, pastillas, pastillas para chupar, formas bucales, trociscos, jarabes, sobres y ampollas, pudiendo corresponder el contenido de silibinina amorfa de los mismos a una fracción de dosis, a una dosis múltiple o a una dosis simple. Las unidades de dosificación pueden contener, por ejemplo, 1, 2, 3 o 4 dosis unitarias, o 1/2, 1/3 o 1/4 de una dosis unitaria. Una dosis unitaria contiene preferentemente la cantidad de silibinina amorfa suministrada en una administración, que normalmente corresponde a una dosis diaria completa o a la mitad, una tercera parte o una cuarta parte de una dosis diaria.

Para los fines de la especificación, el concepto "forma de dosificación farmacéutica" preferiblemente es sinónimo de los conceptos "medicamento", "medicación", "forma de administración" o "unidad de dosis". Por ejemplo, si se trata de un medicamento para la administración oral, por ejemplo en forma de una pastilla, esta pastilla es preferiblemente la unidad de dosis a administrar, que contiene la dosis de la silibinina amorfa prevista para el tiempo de administración correspondiente dentro de un esquema o régimen de tratamiento particular. Si la unidad de dosis es una sola pastilla, la unidad de dosis corresponde a la forma de administración. No obstante, también es posible que la unidad de dosis esté dividida en una cantidad de formas de administración, por ejemplo una cantidad de pastillas, que en cada caso solo contienen una dosis parcial pero que en conjunto suman la dosis total de la silibinina amorfa prevista para el tiempo correspondiente de la administración dentro de un esquema de tratamiento (en este caso, estas pastillas de la unidad de dosis están previstas para una administración esencialmente simultánea).

La forma de dosificación farmacéutica se puede formular para la administración oral. Preferentemente, la forma de dosificación farmacéutica es una forma de administración oral seleccionada entre el grupo consistente en pastillas, cápsulas, pastillas con revestimiento de azúcar, píldoras, gránulos, granulados, micropartículas, nanopartículas y sobres.

Cuando se administra un fármaco vía oral, se debe asegurar que la biodisponibilidad del fármaco de la forma de dosificación oral es suficientemente alta. En cuanto a la silibinina, la biodisponibilidad de las formulaciones convencionales es bastante baja y este es uno de los problemas fundamentales que se resuelven mediante la presente invención. A este respecto, el factor limitativo es el pronunciado carácter lipófilo de la silibinina. Sorprendentemente resulta que el suministro de silibinina como una modificación amorfa puede superar esta limitación sin necesidad de formular la silibinina conjuntamente con excipientes que interactúan con la misma, como ciclodextrinas o fosfolípidos.

Los especialistas conocen formas de dosificación sólidas adecuadas para la administración oral (formas de administración oral). En este contexto se puede hacer referencia por ejemplo a K. H. Bauer y col., Lehrbuch der Pharmazeutischen Technologie [Textbook of Pharmaceutical Technology], WVG Stuttgart 1999, en su totalidad.

La forma de dosificación oral se selecciona preferentemente entre el grupo consistente en pastillas, polvos, píldoras, gránulos, pastillas con revestimiento de azúcar, polvos efervescentes, gránulos efervescentes, pastillas efervescentes, liofilizados y cápsulas. De forma particularmente preferente, la forma de dosificación oral es una pastilla, una pastilla con revestimiento de azúcar, gránulos, una píldora o un polvo, de forma particularmente preferente una pastilla.

Los especialistas conocen excipientes adecuados para la formulación de formas de dosificación oral. En este contexto se puede hacer referencia, por ejemplo, a H. P. Fiedler, Lexikon der Hilfstoffe für Pharmazie, Kosmetik und angrenzende Gebiete [Enciclopedia de excipientes para farmacia, cosmética y áreas relacionadas], Editio Cantor Aulendorf, 2001.

Se ha de entender que las sustancias de soporte farmacéuticamente adecuadas, inertes y no tóxicas, significan diluyentes, materiales de carga y adyuvantes de formulación de todo tipo sólidos, semisólidos o líquidos.

- 5 Las pastillas, grageas, cápsulas, píldoras, gránulos, supositorios, soluciones, jarabes, suspensiones y emulsiones se mencionan como formulaciones farmacéuticas preferentes. Las pastillas, grageas, cápsulas, píldoras y gránulos pueden contener la silibinina amorfa o sustancias además de las sustancias de soporte habituales, tales como a) materiales de carga y extendedores, por ejemplo almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manita y ácido silícico; b) aglutinantes, por ejemplo carboximetilcelulosa, alginatos, gelatinas y polivinilpirrolidona; c) humectantes, por ejemplo glicerina; d) disgregantes, por ejemplo agar-agar, carbonato de calcio y carbonato de sodio; e) retardantes de solubilidad, por ejemplo parafina; f) aceleradores de absorción, por ejemplo compuestos de amonio cuaternario; g) agentes humectantes, por ejemplo alcohol cetílico y monoestearato de glicerina; h) adsorbentes, por ejemplo caolín y bentonita; e i) lubricantes, por ejemplo talco, calcio y estearato de magnesio, y polietilenglicoles sólidos, o mezclas de las sustancias indicadas de a) a i).
- 10
- 15 Las pastillas, grageas, cápsulas, píldoras y gránulos se pueden dotar de revestimientos y envolturas usuales, que opcionalmente contienen agentes opacificantes, y también pueden tener una composición tal que solo suministran la silibinina amorfa o las sustancias en el tracto gastrointestinal, o preferentemente en una porción específica del mismo, opcionalmente de forma retardada, pudiendo utilizarse sustancias poliméricas y ceras como compuestos de encapsulación, por ejemplo.
- 20 La silibinina amorfa o las sustancias también pueden estar presentes en forma microencapsulada, incluyendo micro y nanopartículas, opcionalmente con una o más de las sustancias de soporte arriba indicadas.

Además de la silibinina amorfa o las sustancias, los supositorios pueden contener sustancias de soporte solubles o insolubles en agua usuales, por ejemplo polietilenglicoles, grasas, por ejemplo manteca de cacao, y ésteres superiores (por ejemplo alcohol C₁₄ con ácido graso C₁₆), o mezclas de estas sustancias.

- 25 Además de la silibinina amorfa o las sustancias, las soluciones y emulsiones pueden contener sustancias de soporte usuales tales como disolventes, solubilizantes y emulsionantes.
- Además de la silibinina amorfa o las sustancias, las suspensiones pueden contener sustancias de soporte usuales tales como diluyentes líquidos. Las formas de formulación indicadas también pueden contener tintes, conservantes y aditivos intensificadores del aroma y el sabor, por ejemplo aceite de menta y aceite de eucalipto, y edulcorantes, por ejemplo sacarina.
- 30

La administración del medicamento que comprende silibinina de acuerdo con la invención se puede llevar a cabo de cualquier forma. El régimen de dosificación puede ser diario, por ejemplo una, dos o tres veces.

- Las pastillas se pueden obtener, por ejemplo, mezclando la silibinina amorfa con excipientes conocidos, por ejemplo diluyentes inertes, disgregantes, aglutinantes, lubricantes y/o agentes para lograr el efecto depósito.
- 35 Las pastillas también pueden consistir en una serie de capas. Aparte de los vehículos mencionados, las pastillas también pueden contener aditivos. Además, para la formación de las pastillas también se pueden utilizar adicionalmente lubricantes.

La forma de dosificación farmacéutica puede liberar la silibinina amorfa inmediatamente o de forma controlada.

- 40 Si la liberación tiene lugar de forma controlada, la liberación se produce preferentemente de forma retardada. De acuerdo con la invención, la liberación retardada significa preferiblemente un perfil de liberación en el que la silibinina amorfa es liberada a lo largo de un período de tiempo relativamente largo con una tasa de consumo reducida con el objetivo de una acción terapéutica prolongada. Esto se logra en particular en el caso de la administración oral. De acuerdo con la invención, la expresión "con una liberación retardada al menos en parte" comprende cualquier forma de dosificación farmacéutica que garantice una liberación modificada de la silibinina amorfa contenida en la misma. Las formas de dosificación farmacéuticas preferentemente son formas de dosificación revestidas o no revestidas que se producen utilizando excipientes especiales, de acuerdo con procesos particulares o mediante combinación de las dos posibilidades, con el fin de modificar selectivamente la tasa de liberación o el lugar de liberación. En lo que respecta a la evolución temporal de la liberación, en el caso de las formas de dosificación farmacéuticas de acuerdo con la invención están incluidos los siguientes tipos: liberación retardada (liberación ampliada), liberación de acción reiterada, liberación prolongada y liberación mantenida. Con respecto a otros detalles se puede hacer referencia, por ejemplo, a K. H. Bauer y col., Lehrbuch der Pharmazeutischen Technologie [Textbook of Pharmaceutical Technology], 6ª edición, WVG Stuttgart, 1999.
- 45
- 50

Los especialistas conocen medidas adecuadas para la liberación controlada del compuesto activo. Si la forma de dosificación farmacéutica es una forma de dosificación oral, por ejemplo una pastilla, se puede lograr una liberación retardada por ejemplo incorporando la silibinina amorfa en una matriz polimérica y/o con una película de revestimiento de la forma de dosificación oral mediante una membrana.

- 5 De acuerdo con la invención se pueden emplear formas de dosificación farmacéuticas sólidas, semisólidas o líquidas con un comportamiento de liberación controlada. Son preferibles las formas de dosificación farmacéuticas, por ejemplo sistemas osmóticos orales (*oral osmotic systems* - OROS), pastillas revestidas, pastillas de matriz, pastillas multicapa, pastillas con envoltura, pastillas con revestimiento de azúcar y con envoltura, píldoras de difusión, adsorbatos y cápsulas de gelatina blanda de depósito. La forma de dosificación farmacéutica oral con liberación controlada del compuesto activo es, de forma particularmente preferente, una pastilla revestida, una pastilla con envoltura o una pastilla de matriz, de forma particularmente preferente una pastilla de matriz.

Las formas de dosificación farmacéuticas con liberación controlada del compuesto activo pueden contener la silibinina amorfa en forma disuelta, suspendida y/o sólida amorfa o cristalina.

- 15 Para la producción de las formas de dosificación farmacéuticas de acuerdo con la invención con liberación controlada del compuesto activo, la silibinina se puede emplear en diversos tamaños de partícula, por ejemplo en forma no molida, en forma molida o en forma micronizada. Sin embargo, preferentemente, la silibinina amorfa no está presente en forma de nanopartículas.

- 20 En las formas de dosificación farmacéutica con liberación controlada del compuesto activo, la silibinina amorfa está presente preferentemente en forma de partículas que contienen silibinina amorfa, por ejemplo píldoras, gránulos, microcápsulas, pastillas, mezclas extrudidas o cristales, que están revestidas con una membrana de control de difusión.

- 25 Estas formas de dosificación farmacéuticas de difusión controlada son preferentemente multipartículas, es decir, preferiblemente consisten en múltiples núcleos revestidos, por ejemplo píldoras neutras sobre las que se aplica una mezcla de silibinina amorfa con un aglutinante y espesante usual, opcionalmente junto con excipientes y vehículos usuales, y que a continuación se revisten con una laca de difusión, el plastificante y otros excipientes. Las formas de dosificación farmacéutica de difusión controlada de acuerdo con la invención pueden ser además núcleos homogéneos que comprenden la silibinina amorfa y que se producen, por ejemplo, por granulación, granulación por rotor, aglomeración en lecho fluidizado, formación de pastillas, extrusión húmeda o extrusión en fusión, opcionalmente con esferización, y se revisten con una laca de difusión que puede contener plastificantes y otros excipientes.

Las partículas que contienen la silibinina amorfa pueden contener excipientes, por ejemplo ácidos o sustancias tampón, que modifican el pH y así contribuyen a reducir la dependencia de la liberación de la silibinina amorfa del pH del medio de liberación.

- 35 La membrana de control de difusión puede contener además otros excipientes que, debido a su solubilidad dependiente del pH, influyen en la permeabilidad de la membrana con diversos pH y así contribuyen a minimizar la dependencia de la liberación de la silibinina amorfa del pH.

- 40 Además, la forma de dosificación farmacéutica de liberación controlada de la silibinina amorfa puede ser una forma de dosificación revestida que contiene uno o más excipientes hinchables, que se hinchan en gran medida con la penetración de líquido a través de la membrana y provocan la rotura del revestimiento como resultado del hinchamiento y la expansión del volumen. La rotura del revestimiento posibilita la liberación del compuesto farmacéutico de la forma de dosificación farmacéutica (liberación pulsátil).

- 45 Las formas de dosificación farmacéuticas revestidas, de difusión controlada o pulsátiles descritas se pueden emplear directamente y sin cambios como una forma farmacéutica. No obstante, también se pueden procesar, opcionalmente con adición de excipientes para obtener la forma de dosificación final (por ejemplo cápsula, pastilla, sobre). Con el fin de lograr un perfil de liberación deseado, también es posible combinar entre sí diversas partículas revestidas en una forma farmacéutica, y una administración de una dosis inicial puede tener lugar, por ejemplo, mediante combinación con partículas de liberación rápida, por ejemplo píldoras no revestidas, gránulos o polvos.

- 50 Otras formas de dosificación farmacéuticas con liberación controlada que también pueden emplearse son formulaciones que comprenden la silibinina amorfa en una matriz. Estas formulaciones de matriz liberan la silibinina amorfa por difusión y/o erosión. Preferentemente, estas formas de dosificación farmacéutica están presentes en forma de una pastilla o en forma de una cantidad de pastillas que, por ejemplo, pueden estar encapsuladas. Las pastillas se pueden revestir o lacar. Estas formas de dosificación farmacéuticas se

producen, por ejemplo, mezclando los constituyentes y formando directamente pastillas, o mediante granulación en seco o en húmedo con formación subsiguiente de pastillas.

5 Los agentes formadores de matriz empleados pueden ser sustancias solubles en agua, hinchables en agua o insolubles en agua. Preferentemente, las formas de dosificación farmacéutica contienen uno o más polímeros hinchables con agua.

Además, es posible utilizar sustancias insolubles en agua como agentes formadores de estructura. Las formas de dosificación farmacéuticas pueden contener además excipientes de formación de pastillas usuales.

10 Adicionalmente, en la matriz se pueden incorporar sustancias que controlan el pH en la misma. Mediante la adición de estos excipientes modificadores del pH y/o mediante la adición de sustancias que se disuelven con un pH creciente o que se disuelven y separan de la matriz y así aumentan la porosidad o permeabilidad de la matriz y/o promueven la erosión de la matriz, en estas realizaciones preferentes de la presente invención es posible lograr una liberación prácticamente independiente del pH.

15 La matriz que contiene la silibinina amorfa también puede estar presente en formas geométricas especiales en las que la geometría especial y la superficie de matriz influyen en la liberación. La superficie de matriz y la superficie de liberación se pueden controlar, por ejemplo mediante compresión, para obtener formatos especiales (por ejemplo pastillas anulares) y/o mediante revestimiento de subzonas o aplicación de capas barrera mediante una prensa multicapa.

20 Preferiblemente se pueden combinar formulaciones con diferentes propiedades de liberación para obtener una forma farmacéutica en pastillas multicapa o de envoltura-núcleo. Por ejemplo, por medio de múltiples pastillas que comprenden una capa de liberación rápida, o pastillas de envoltura-núcleo que tienen una envoltura de liberación rápida, se logran las liberaciones controladas de acuerdo con la invención con una alta liberación inicial de la silibinina amorfa, mientras que por medio de pastillas de envoltura-núcleo con un núcleo de liberación rápida se puede lograr una liberación final acelerada.

25 Otra forma de dosificación farmacéutica de liberación controlada de la silibinina amorfa es aquella donde la silibinina amorfa está incorporada en una matriz consistente en uno o más excipientes fisiológicamente aceptables por medio de un proceso de fusión. La liberación de la silibinina amorfa de estos "productos extrudidos en fusión" tiene lugar mediante difusión y/o erosión. Preferentemente, estas formulaciones de liberación controlada de la silibinina amorfa están presentes en forma de gránulos, píldoras o tabletas. Las formas obtenidas mediante extrusión en fusión, en particular píldoras o gránulos, se pueden procesar para
30 obtener otras formas farmacéuticas, por ejemplo por encapsulación o formación de pastillas, opcionalmente con adición de otros excipientes farmacéuticamente usuales. Además, los productos de extrusión en fusión de acuerdo con la invención se pueden moler y después emplear en esta forma triturada para la producción de otras formas de dosificación farmacéutica, como por ejemplo pastillas de matriz. El procesamiento adicional también comprende la combinación de formulaciones que presentan diferente liberación
35 farmacéutica, por ejemplo partículas de liberación retardada y de liberación rápida, para obtener una forma de dosificación farmacéutica.

40 Los productos de extrusión en fusión y/o las formas farmacéuticas producidas a partir de productos de extrusión en fusión se pueden revestir o lacar. Los productos de extrusión en fusión se producen preferentemente mezclando la silibinina amorfa con al menos un excipiente fundible fisiológicamente aceptable (sustancia de soporte) y opcionalmente otras sustancias farmacéuticas adicionales usuales, fundiendo estos componentes a una temperatura entre 50 y 250°C, preferentemente de 60 a 200°C, moldeando la masa fundida por inyección o extrudiendo y conformando la misma. Durante este proceso, la mezcla de los componentes puede tener lugar antes de la fusión o durante la misma, o algunos de los componentes se funden y los otros constituyentes se añaden a esta masa fundida. La mezcla del vehículo, la
45 silibinina amorfa y otras sustancias adicionales opcionalmente presentes es deformable termoplásticamente y por tanto se puede extrudir. Existen numerosos métodos adecuados para la conformación de la mezcla, por ejemplo granulación en caliente, granulación en frío, calandrado, extrusión y deformación del cordón todavía plástico o redondeado del mismo.

50 Además de la silibinina amorfa, una o más sustancias de soporte y opcionalmente uno o más plastificantes, la mezcla extrudible puede contener otras sustancias adicionales farmacéuticamente usuales, por ejemplo lubricantes y agentes de desmoldeo, lubricantes y agentes de flujo, materiales de carga y adsorbentes, estabilizadores, separadores de radicales libres, agentes complejantes, antioxidantes, fotoestabilizadores, propelentes, tensioactivos, conservantes, colorantes, edulcorantes y aromatizantes.

55 Las formas de dosificación farmacéutica de liberación controlada de la silibinina amorfa también pueden ser productos extrudidos en fusión que contienen excipientes con propiedades modificadoras del pH y/o

solubilidad dependiente del pH. Por medio de estos excipientes (por ejemplo los ácidos, bases, sustancias tampón y polímeros entéricos ya descritos con antelación) es posible minimizar la dependencia del pH de la liberación de la silibinina amorfa.

- 5 Durante la producción de los productos extrudidos en fusión puede tener lugar la formación de "soluciones sólidas", en las que la silibinina amorfa está presente en la matriz en una forma molecularmente dispersa.

Las formas de dosificación farmacéutica de liberación controlada de la silibinina amorfa también pueden ser sistemas de liberación farmacéutica osmóticos. En principio, en el estado anterior de la técnica se conocen sistemas osmóticos de este tipo. En este caso, la liberación farmacéutica de la forma farmacéutica se basa en general en la presión osmótica como fuerza motriz.

- 10 Preferentemente, la forma de dosificación farmacéutica se formula para la administración una vez al día (q.d.), dos veces al día (b.i.d.), tres veces al día (t.i.d.) o cuatro veces al día.

- 15 En una realización preferente, al menos un 75% en peso de la silibinina amorfa originalmente incluida ha sido liberada de la forma de dosificación farmacéutica después de 1 hora bajo condiciones *in vitro*. Los especialistas conocen condiciones adecuadas para determinar la liberación *in vitro* de silibininas amorfas. En este contexto se puede hacer referencia por ejemplo a la Farmacopea Europea. Preferentemente, la determinación de la liberación se lleva a cabo con ayuda de un aparato agitador de paletas en jugos gástricos artificiales (tampón pH 1,2) o jugos intestinales artificiales (tampón pH 7,6). La cantidad de la silibinina amorfa liberada se puede analizar, por ejemplo, con ayuda de detección por HPLC y UV.

- 20 En una realización preferente, las formas de dosificación oral son formas de dosificación de liberación inmediata, es decir, la silibinina amorfa se libera rápidamente de las mismas, lo que conduce a una rápida aparición del fármaco en el tracto gastrointestinal. En una realización preferente, 30 minutos después de la administración de la forma de dosificación oral se ha liberado de la misma al menos un 75% en peso, de forma especialmente preferente al menos un 80% en peso, de forma todavía más preferente al menos un 85% en peso, de forma totalmente preferente al menos un 90% en peso y en particular al menos un 95% en peso de la silibinina amorfa originalmente contenida en la forma de dosificación oral.

En otra realización preferente, entre un 0,5 y un 75% en peso de la silibinina amorfa originalmente contenida en la forma de dosificación farmacéutica se ha liberado de la misma después de 1 hora bajo condiciones *in vitro*.

En la siguiente tabla se resumen los perfiles de liberación preferentes A₁ a A₈:

Después de [h]	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	A ₅	A ₆	A ₇	A ₈
	% en peso	% en peso	% en peso	% en peso	% en peso	% en peso	% en peso	% en peso
0,5	5,0-34	6,0-34	7,0-32	9,0-31	11-30	13-30	15-29	17-28
1	12-53	15-52	18-50	20-48	22-46	24-44	27-42	30-40
2	25-74	27-71	29-68	31-65	33-62	36-60	39-58	42-56
3	33-85	36-82	39-79	42-76	45-73	48-71	50-69	52-67
4	41-92	44-89	47-86	50-83	53-81	55-79	58-77	60-75
6	52-98	55-97	58-96	60-94	63-92	66-90	69-88	72-86
8	>62	>65	>68	71-99	74-98	76-98	78-97	80-97
12	>70	>73	>76	>79	>82	>84	>86	>88

30

En una realización preferente, la forma de dosificación farmacéutica contiene silibinina amorfa en combinación con una ciclodextrina y/o un fosfolípido.

- 35 En el estado anterior de la técnica se conocen formulaciones farmacéuticas que contienen silibinina (véase, por ejemplo, EP 422 497). Preferentemente, la silibinina forma un complejo de inclusión con la ciclodextrina. Ciclodextrinas preferentes son α -, β - y γ -ciclodextrinas, sus derivados de O-alkilo(C₁-C₄) e hidroxialkilo(C₁-C₄).

- 40 En el estado anterior de la técnica también se conocen formulaciones farmacéuticas que contienen silibinina y fosfolípidos (véase US 4 764 508). Preferentemente, la silibinina forma un complejo con el fosfolípido. Fosfolípidos preferentes son fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina y fosfatidilserina. Complejos de silibinina y fosfolípido preferentes son complejos ternarios que contienen adicionalmente vitamina E (α -tocoferol). En el estado anterior de la técnica se conocen complejos de este tipo como "complejos SPV" (véase A Federico, Gut. 2006, 55(6), 901-2).

- Además de la silibinina amorfa, la forma de dosificación farmacéutica puede contener uno o más terpenos. Por medio de la acción del terpeno se pueden mejorar tanto los requisitos de absorción como los procesos de absorción y, en consecuencia, la absorción en conjunto. Los terpenos pueden ser aceites esenciales naturales o sintéticos y/o sus constituyentes terpenoides en forma de las sustancias puras o mezclas o
- 5 derivados de estas sustancias puras. Entre los aceites esenciales se pueden mencionar en particular aceite de tomillo, aceite de eucalipto, aceite de agujas de pino, aceite de árbol de té, aceite de cayeputi, aceite de cardamomo, aceite de menta, aceite de salvia y aceite de romero, preferiblemente aceite de tomillo. En cuanto a los terpenos, como sustancias que también incluyen sustancias terpenoides, se pueden mencionar en particular hemiterpenos tales como, por ejemplo, isopreno, ácido tíglico, ácido angélico, ácido isovalérico;
- 10 monoterpenos, incluyendo los monoterpenos acíclicos, por ejemplo 2,6-dimetiloctano, α -mirceno, (E)-p-ocimeno, perileno, linalol, geranial, (S)-(+)-citronellal y monoterpenos monocíclicos, por ejemplo monoterpenos de ciclopropano y monoterpenos de ciclobutano tales como ácido crisantémico o junionona, monoterpenos de ciclopentano tales como, iridoides o nepetalactonas o (-)-secologanina y (-)-oleuropeína, monoterpenos de ciclohexano tales como o-metano, cis- o trans-p-mentano, (R)-(+)-limoneno, terpinoles, (-)-mentol, (+)-perillaldehído, (-)-mentona o (+)-carvona, monoterpenos bicíclicos tales como los terpenos puenteados con oxígeno 1,4-cineol, 1-8-cineol o ascaridol; bicíclo de ciclopropano carano y tuyano, ciclobutano bicíclo pinano y los bicícloheptanos canfano y fenchano; sesquiterpenos tales como famesano, bisabolano, germacrano elemano, y humulano. Terpenos particularmente preferentes son timol, mentol, cineol, borneol, carbona, limenona y pineno, normalmente de forma preferente timol.
- 20 La forma de dosificación farmacéutica contiene silibinina amorfa. La silibinina es un constituyente de la silimarina. Preferentemente, además de la silibinina amorfa, la forma de dosificación farmacéutica no contiene ninguno de los otros constituyentes de la silimarina. Además, la forma de dosificación farmacéutica preferiblemente no contiene ningún excipiente farmacéutico que interactúe con la silibinina, por ejemplo que forme complejos con silibinina como ciclodextrinas o fosfolípidos.
- 25 Preferentemente, la forma de dosificación farmacéutica no contiene una o más de las sustancias seleccionadas entre el grupo consistente en isosilibinina, silidianina, silicristina, taxifolina, isosilicristina, silimonina, silandrina, silihhermina y neosilihhermina, es decir, preferiblemente, la forma de dosificación farmacéutica está esencialmente libre de al menos una de las sustancias arriba mencionadas. En este contexto, "esencialmente libre" significa que el contenido residual de la sustancia en cuestión es
- 30 preferiblemente menor del 2,0% en peso, de forma especialmente preferente menor del 1,0% en peso, de forma todavía más preferente menor del 0,5% en peso, de forma totalmente preferente menor del 0,1% en peso y en particular menor del 0,05% en peso, basado en el peso total de la forma de dosificación farmacéutica. Los especialistas conocen métodos analíticos para determinar el contenido residual de estas sustancias, por ejemplo HPLC.
- 35 Se ha comprobado que los constituyentes individuales de la silimarina se diferencian por sus propiedades químicas y físicas y contribuyen a la actividad farmacológica de la silimarina en medidas muy diferentes, de modo que resulta ventajoso administrar silibinina o sus derivados y/o sales como único constituyente de la silimarina, es decir, de forma exclusiva. Parece que así se puede mejorar tanto la eficacia como el cumplimiento de las indicaciones por parte del paciente.
- 40 Además, sorprendentemente se ha comprobado que las tolerabilidades de los diversos constituyentes de la silimarina difieren entre sí y que la silibina es más tolerable, en particular menos tóxica, que la silimarina (es decir, que la mezcla que contiene otros compuestos además de la silibinina).
- En una realización preferente, la forma de dosificación farmacéutica contiene la silibinina amorfa preferentemente en una dosis de al menos 10 mg, al menos 15 mg, al menos 20 mg, al menos 25 mg, al
- 45 menos 50 mg, al menos 75 mg, al menos 100 mg, al menos 125 mg, al menos 150 mg, al menos 175 mg o al menos 200 mg; de forma especialmente preferente al menos 225 mg, al menos 250 mg, al menos 275 mg, al menos 300 mg, al menos 325 mg, al menos 350 mg, al menos 375 mg, o al menos 400 mg; de forma todavía más preferente al menos 425 mg, al menos 450 mg, al menos 475 mg, al menos 500 mg, al menos 525 mg, al menos 550 mg, al menos 575 mg o al menos 600 mg; de forma totalmente preferente al menos 625 mg, al
- 50 menos 650 mg, al menos 675 mg, al menos 700 mg, al menos 725 mg, al menos 750 mg, al menos 775 mg, o al menos 800 mg; y en particular al menos 825 mg, al menos 850 mg, al menos 875 mg, al menos 900 mg, al menos 925 mg, al menos 950 mg o al menos 1000 mg.
- En otra realización preferente, la forma de dosificación farmacéutica contiene la silibinina amorfa preferentemente en una dosis de al menos 1.050 mg, al menos 1.100 mg, al menos 1.150 mg, al menos
- 55 1.200 mg o al menos 1.250 mg; de forma especialmente preferente al menos 1.300 mg, al menos 1350 mg, al menos 1.400 mg o al menos 1.450 mg; de forma todavía más preferente al menos 1.500 mg, al menos 1.550 mg, al menos 1.600 mg, al menos 1.650 mg o al menos 1.700 mg; de forma totalmente preferente al menos

1.750 mg, al menos 1.800 mg, al menos 1.850 mg, al menos 1.900 mg, al menos 1.950 mg o al menos 2.000 mg.

5 Cuando la dosis es demasiado alta para ser tragada por un sujeto si se incorpora en una sola forma de dosificación farmacéutica, los especialistas saben perfectamente que la dosis correspondiente se puede dividir en dos o más subporciones incorporadas en dos o más formas de dosificación farmacéuticas adaptadas para una administración simultánea.

10 La forma de dosificación farmacéutica contiene la silibinina amorfa preferentemente en una dosis de al menos 1,0 mg/kg, de forma especialmente preferente al menos 2,5 mg/kg, de forma todavía más preferente al menos 5,0 mg/kg, de forma totalmente preferente al menos 7,5 mg/kg y en particular al menos 10 mg/kg, al menos 12,5 mg/kg, al menos 15 mg/kg, al menos 17,5 mg/kg, al menos 20 mg/kg, al menos 22,5 mg/kg, al menos 25 mg/kg, al menos 27,5 mg/kg o al menos 30 mg/kg, basado en el peso corporal del paciente. Preferentemente, dicha dosis es una dosis diaria. Por consiguiente, cuando la forma de dosificación farmacéutica está adaptada por ejemplo para ser administrada dos veces al día, la dosis diaria respectiva se divide en dos porciones de la misma cantidad. Análogamente, cuando la forma de dosificación farmacéutica está adaptada para ser administrada por ejemplo tres veces al día, la dosis diaria respectiva se divide en tres porciones de la misma cantidad.

15 En una realización preferente, la dosis diaria de silibinina amorfa es de al menos 5, de forma especialmente preferente al menos 10, de forma todavía más preferente al menos 15 y de forma totalmente preferente al menos 20 mg por kg de peso corporal.

20 En una realización preferente, la dosis diaria de silibinina amorfa es de 20 mg por kg de peso corporal. Por tanto, cuando la forma de dosificación farmacéutica está adaptada para ser administrada una vez al día, preferentemente contiene toda la cantidad de la silibinina amorfa, por ejemplo 1.400 mg de silibinina amorfa para un paciente con un peso corporal de 70 kg. Cuando la forma de dosificación farmacéutica está adaptada para ser administrada dos veces al día, preferentemente contiene la mitad de la cantidad de la silibinina amorfa, por ejemplo 700 mg de silibinina amorfa para un paciente con un peso corporal de 70 kg. Cuando la forma de dosificación farmacéutica está adaptada para ser administrada tres veces al día, preferentemente contiene una tercera parte de la cantidad de la silibinina amorfa, por ejemplo 467 mg de silibinina amorfa para un paciente con un peso corporal de 70 kg. Cuando la forma de dosificación farmacéutica está adaptada para ser administrada cuatro veces al día, preferentemente contiene una cuarta parte la cantidad de la silibinina amorfa, por ejemplo 350 mg de silibinina amorfa para un paciente con un peso corporal de 70 kg.

30 En una realización preferente, la forma de dosificación farmacéutica está adaptada para ser administrada una vez, dos veces, tres veces o cuatro veces al día, de modo que la dosis diaria global de silibinina amorfa administrada cuando la forma de dosificación farmacéutica se administra del modo prescrito es de al menos 300 mg, al menos 350 mg, al menos 375 mg o al menos 400 mg; de forma especialmente preferente al menos 425 mg, al menos 450 mg, al menos 475 mg, al menos 500 mg, al menos 525 mg, al menos 550 mg, al menos 575 mg o al menos 600 mg; de forma todavía más preferente al menos 625 mg, al menos 650 mg, al menos 675 mg, al menos 700 mg, al menos 725 mg, al menos 750 mg, al menos 775 mg o al menos 800 mg; de forma incluso más preferente al menos 825 mg, al menos 850 mg, al menos 875 mg, al menos 900 mg, al menos 925 mg, al menos 950 mg, al menos 975 mg o al menos 1.000 mg; de forma totalmente preferente al menos 1.050 mg, al menos 1.100 mg, al menos 1.150 mg, al menos 1.200 mg o al menos 1.250 mg; y en particular al menos 1.300 mg, al menos 1.350 mg, al menos 1.400 mg, al menos 1.450 mg o al menos 1.500 mg.

45 En otra realización preferente, la forma de dosificación farmacéutica está adaptada para ser administrada una vez, dos veces, tres veces o cuatro veces al día, de modo que la dosis diaria global de silibinina amorfa administrada cuando la forma de dosificación farmacéutica se administra del modo prescrito es de al menos 1.000 mg, al menos 1.050 mg, al menos 1.100 mg, al menos 1.150 mg o al menos 1.200 mg; de forma especialmente preferente al menos 1.250 mg, al menos 1.300 mg, al menos 1.350 mg, al menos 1.400 mg, al menos 1.450 mg, al menos 1.500 mg, al menos 1.550 mg o al menos 1.600 mg; de forma todavía más preferente al menos 1.650 mg, al menos 1.700 mg, al menos 1.750 mg, al menos 1.800 mg, al menos 1.850 mg, al menos 1.900 mg, al menos 1.950 mg o al menos 2.000 mg; de forma incluso más preferente al menos 2.050 mg, al menos 2.100 mg, al menos 2.150 mg, al menos 2.200 mg, al menos 2.250 mg, al menos 2.300 mg, al menos 2.350 mg o al menos 2.400 mg; de forma totalmente preferente al menos 2.450 mg, al menos 2.500 mg, al menos 2.550 mg, al menos 2.600 mg o al menos 2.650 mg; y en particular al menos 2.700 mg, al menos 2.750 mg, al menos 2.800 mg, al menos 2.850 mg, al menos 2.900 mg, al menos 2.950 mg o al menos 3.000 mg.

55 En una realización preferente, después de una sola administración oral, la forma de dosificación farmacéutica de acuerdo con la invención proporciona concentraciones máximas en suero $C_{m\acute{a}x}$ de silibinina libre (libre = no

5 metabolizada ni unida a proteínas plasmáticas, silibinina A + silibinina B) de al menos 5.000 ng/ml o al menos 6.000 ng/ml, de forma especialmente preferente al menos 7.000 ng/ml o al menos 8.000 ng/ml, de forma todavía más preferente al menos 9.000 ng/ml o al menos 10.000 ng/ml, de forma todavía más preferente al menos 11.000 ng/ml o al menos 12.000 ng/ml, de forma totalmente preferente al menos 13.000 ng/ml o al menos 14.000 ng/ml y en particular al menos 15.000 ng/ml o al menos 16.000 ng/ml.

10 En una realización preferente, después de una sola administración oral, la forma de dosificación farmacéutica de acuerdo con la invención proporciona concentraciones máximas en suero $C_{m\acute{a}x}$ de silibinina A libre (libre = no metabolizada ni unida a proteínas plasmáticas) de al menos 1.000 ng/ml o al menos 1.500 ng/ml, de forma especialmente preferente al menos 2.000 ng/ml o al menos 2.500 ng/ml, de forma todavía más preferente al menos 3.000 ng/ml o al menos 4.000 ng/ml, de forma incluso más preferente al menos 5.000 ng/ml o al menos 6.000 ng/ml, de forma totalmente preferente al menos 7.000 ng/ml o al menos 8.000 ng/ml y en particular al menos 9.000 ng/ml o al menos 10.000 ng/ml.

15 En una realización preferente, después de una sola administración oral, la forma de dosificación farmacéutica de acuerdo con la invención proporciona concentraciones máximas en suero $C_{m\acute{a}x}$ de silibinina B libre (libre = no metabolizada ni unida a proteínas plasmáticas) de al menos 1.250 ng/ml o al menos 1.500 ng/ml, de forma especialmente preferente al menos 1.750 ng/ml o al menos 2.000 ng/ml, de forma todavía más preferente al menos 2.250 ng/ml o al menos 2.500 ng/ml, de forma incluso más preferente al menos 2.750 ng/ml o al menos 3.000 ng/ml, de forma totalmente preferente al menos 3.250 ng/ml o al menos 3.500 ng/ml y en particular al menos 3.750 ng/ml o al menos 4.000 ng/ml.

20 En una realización preferente, después de una sola administración oral, la forma de dosificación farmacéutica de acuerdo con la invención proporciona un área bajo la curva AUC_t para la silibinina libre (libre = no metabolizada ni unida a proteínas plasmáticas, silibinina A + silibinina B) de al menos 5.000 ng/h/ml o al menos 6.000 ng/h/ml, de forma especialmente preferente al menos 7.000 ng/h/ml o al menos 8.000 ng/h/ml, de forma todavía más preferente al menos 9.000 ng/h/ml o al menos 10.000 ng/h/ml, de forma incluso más preferente al menos 11.000 ng/h/ml o al menos 12.000 ng/h/ml, de forma totalmente preferente al menos 13.000 ng/h/ml o al menos 14.000 ng/h/ml y en particular al menos 15.000 ng/h/ml o al menos 16.000 ng/h/ml.

30 En una realización preferente, después de una sola administración oral, la forma de dosificación farmacéutica de acuerdo con la invención proporciona un área bajo la curva AUC_t para la silibinina A libre (libre = no metabolizada ni unida a proteínas plasmáticas) de al menos 3.000 ng/h/ml o al menos 4.000 ng/h/ml, de forma especialmente preferente al menos 5.000 ng/h/ml o al menos 6.000 ng/h/ml, de forma todavía más preferente al menos 7.000 ng/h/ml o al menos 8.000 ng/h/ml, de forma incluso más preferente al menos 9.000 ng/h/ml o al menos 10.000 ng/h/ml, de forma totalmente preferente al menos 11.000 ng/h/ml o al menos 12.000 ng/h/ml y en particular al menos 13.000 ng/h/ml o al menos 14.000 ng/h/ml.

35 En una realización preferente, después de una sola administración oral, la forma de dosificación farmacéutica de acuerdo con la invención proporciona un área bajo la curva AUC_t para la silibinina B libre (libre = no metabolizada ni unida a proteínas plasmáticas) de al menos 1.000 ng/h/ml o al menos 1.200 ng/h/ml, de forma especialmente preferente al menos 1.400 ng/h/ml o al menos 1.600 ng/h/ml, de forma todavía más preferente al menos 1.800 ng/h/ml o al menos 2.000 ng/h/ml, de forma incluso más preferente al menos 2.500 ng/h/ml o al menos 3.000 ng/h/ml, de forma totalmente preferente al menos 3.500 ng/h/ml o al menos 4.000 ng/h/ml y en particular al menos 4.500 ng/h/ml o al menos 5.000 ng/h/ml.

45 En una realización preferente, después de la administración oral regular del modo prescrito, por ejemplo una vez, dos veces o tres veces al día, durante al menos siete días consecutivos, la forma de dosificación farmacéutica de acuerdo con la invención proporciona concentraciones medias en suero C_{av} de silibinina libre (libre = no metabolizada ni unida a proteínas plasmáticas, silibinina A + silibinina B) de al menos 150 ng/ml, de forma especialmente preferente al menos 170 ng/ml, de forma todavía más preferente al menos 180 ng/ml, de forma incluso más preferente al menos 190 ng/ml, de forma totalmente preferente al menos 200 ng/ml y en particular al menos 210 ng/ml.

50 En otra realización preferente, después de la administración oral continua del modo prescrito, por ejemplo una vez, dos veces o tres veces al día, durante al menos siete días consecutivos, la forma de dosificación farmacéutica de acuerdo con la invención proporciona concentraciones medias en suero C_{av} de silibinina total (total = libre + metabolizada + unida a proteínas plasmáticas, silibinina A + silibinina B) de al menos 7.000 ng/ml, de forma especialmente preferente al menos 8.000 ng/ml, de forma todavía más preferente al menos 8.500 ng/ml, de forma incluso más preferente al menos 9.000 ng/ml, de forma totalmente preferente al menos 9.500 ng/ml y en particular al menos 9.750 ng/ml.

55 En otra realización preferente, después de la administración oral continua del modo prescrito, por ejemplo una vez, dos veces o tres veces al día, durante al menos siete días consecutivos, la forma de dosificación

5 farmacéutica de acuerdo con la invención proporciona concentraciones medias en suero C_{av} de silibinina total (total = libre + metabolizada + unida a proteínas plasmáticas, silibinina A + silibinina B) de al menos 25.000 ng/ml, de forma especialmente preferente al menos 30.000 ng/ml, de forma todavía más preferente al menos 35.000 ng/ml, de forma incluso más preferente al menos 40.000 ng/ml, de forma totalmente preferente al menos 45.000 ng/ml y en particular al menos 47.500 ng/ml.

10 En una realización preferente, después de la administración oral continua del modo prescrito, por ejemplo una vez, dos veces o tres veces al día, durante al menos siete días consecutivos, la forma de dosificación farmacéutica de acuerdo con la invención proporciona concentraciones medias en suero C_{av} de silibinina A libre (libre = no metabolizada ni unida a proteínas plasmáticas) de al menos 110 ng/ml, de forma especialmente preferente al menos 130 ng/ml, de forma todavía más preferente al menos 150 ng/ml, de forma incluso más preferente al menos 155 ng/ml, de forma totalmente preferente al menos 160 ng/ml y en particular al menos 165 ng/ml.

15 En otra realización preferente, después de la administración oral continua del modo prescrito, por ejemplo una vez, dos veces o tres veces al día, durante al menos siete días consecutivos, la forma de dosificación farmacéutica de acuerdo con la invención proporciona concentraciones medias en suero C_{av} de silibinina A total (total = libre + metabolizada + unida a proteínas plasmáticas) de al menos 2.000 ng/ml, de forma especialmente preferente al menos 2.500 ng/ml, de forma todavía más preferente al menos 2.750 ng/ml, de forma incluso más preferente al menos 3.000 ng/ml, de forma totalmente preferente al menos 3.250 ng/ml y en particular al menos 3.500 ng/ml.

20 En otra realización preferente, después de la administración oral continua del modo prescrito, por ejemplo una vez, dos veces o tres veces al día, durante al menos siete días consecutivos, la forma de dosificación farmacéutica de acuerdo con la invención proporciona concentraciones medias en suero C_{av} de silibinina A total (total = libre + metabolizada + unida a proteínas plasmáticas) de al menos 10.000 ng/ml, de forma especialmente preferente al menos 15.000 ng/ml, de forma todavía más preferente al menos 20.000 ng/ml, de forma incluso más preferente al menos 22.500 ng/ml, de forma totalmente preferente al menos 25.000 ng/ml y en particular al menos 27.500 ng/ml.

30 En una realización preferente, después de la administración oral continua del modo prescrito, por ejemplo una vez, dos veces o tres veces al día, durante al menos siete días consecutivos, la forma de dosificación farmacéutica de acuerdo con la invención proporciona concentraciones medias en suero C_{av} de silibinina B libre (libre = no metabolizada ni unida a proteínas plasmáticas) de al menos 20 ng/ml, de forma especialmente preferente al menos 25 ng/ml, de forma todavía más preferente al menos 30 ng/ml, de forma incluso más preferente al menos 35 ng/ml, de forma totalmente preferente al menos 38 ng/ml y en particular al menos 40 ng/ml.

35 En otra realización preferente, después de la administración oral continua del modo prescrito, por ejemplo una vez, dos veces o tres veces al día, durante al menos siete días consecutivos, la forma de dosificación farmacéutica de acuerdo con la invención proporciona concentraciones medias en suero C_{av} de silibinina B total (total = libre + metabolizada + unida a proteínas plasmáticas) de al menos 4.500 ng/ml, de forma especialmente preferente al menos 5.000 ng/ml, de forma todavía más preferente al menos 5.500 ng/ml, de forma incluso más preferente al menos 5.750 ng/ml, de forma totalmente preferente al menos 6.000 ng/ml y en particular al menos 6.250 ng/ml.

45 En otra realización preferente, después de la administración oral continua del modo prescrito, por ejemplo una vez, dos veces o tres veces al día, durante al menos siete días consecutivos, la forma de dosificación farmacéutica de acuerdo con la invención proporciona concentraciones medias en suero C_{av} de silibinina B total (total = libre + metabolizada + unida a proteínas plasmáticas) de al menos 7.500 ng/ml, de forma especialmente preferente al menos 10.000 ng/ml, de forma todavía más preferente al menos 12.000 ng/ml, de forma incluso más preferente al menos 14.000 ng/ml, de forma totalmente preferente al menos 16.000 ng/ml y en particular al menos 18.000 ng/ml.

Los especialistas saben perfectamente cómo medir las C_{av} de las silibininas A y B libres así como de las silibininas A y B totales, respectivamente.

50 En una realización preferente, después de la administración oral continua del modo prescrito, por ejemplo una vez, dos veces o tres veces al día, durante al menos siete días consecutivos, la forma de dosificación farmacéutica de acuerdo con la invención proporciona concentraciones máximas en suero $C_{m\acute{a}x}$ de silibinina libre (libre = no metabolizada ni unida a proteínas plasmáticas, silibinina A + silibinina B) de al menos 300 ng/ml, de forma especialmente preferente al menos 325 ng/ml, de forma todavía más preferente al menos 350 ng/ml, de forma incluso más preferente al menos 375 ng/ml, de forma totalmente preferente al menos 400 ng/ml y en particular al menos 425 ng/ml.

Los especialistas saben perfectamente cómo medir las $C_{m\acute{a}x}$ de las silibininas A y B libres así como de las silibininas A y B totales, respectivamente.

5 En una realización preferente, después de la administración oral continua del modo prescrito, por ejemplo una vez, dos veces o tres veces al día, durante al menos siete días consecutivos, la forma de dosificación farmacéutica de acuerdo con la invención proporciona concentraciones mínimas en suero $C_{m\acute{i}n}$ de silibinina libre (libre = no metabolizada ni unida a proteínas plasmáticas, silibinina A + silibinina B) de al menos 30 ng/ml, de forma especialmente preferente al menos 35 ng/ml, de forma todavía más preferente al menos 40 ng/ml, de forma incluso más preferente al menos 45 ng/ml, de forma totalmente preferente al menos 55 ng/ml y en particular al menos 60 ng/ml.

10 En otra realización preferente, después de la administración oral continua del modo prescrito, por ejemplo una vez, dos veces o tres veces al día, durante al menos siete días consecutivos, la forma de dosificación farmacéutica de acuerdo con la invención proporciona concentraciones mínimas en suero $C_{m\acute{i}n}$ de silibinina total (total = libre + metabolizada + unida a proteínas plasmáticas, silibinina A + silibinina B) de al menos 4.000 ng/ml, de forma especialmente preferente al menos 4.250 ng/ml, de forma todavía más preferente al menos 4.500 ng/ml, de forma incluso más preferente al menos 4.750 ng/ml, de forma totalmente preferente al menos 5.000 ng/ml y en particular al menos 5.250 ng/ml.

20 En otra realización preferente más, después de la administración oral continua del modo prescrito, por ejemplo una vez, dos veces o tres veces al día, durante al menos siete días consecutivos, la forma de dosificación farmacéutica de acuerdo con la invención proporciona concentraciones mínimas en suero $C_{m\acute{i}n}$ de silibinina total (total = libre + metabolizada + unida a proteínas plasmáticas, silibinina A + silibinina B) de al menos 5.000 ng/ml, de forma especialmente preferente al menos 5.500 ng/ml, de forma todavía más preferente al menos 6.000 ng/ml, de forma incluso más preferente al menos 6.500 ng/ml, de forma totalmente preferente al menos 7.000 ng/ml y en particular al menos 7.500 ng/ml.

25 En una realización preferente, después de la administración oral continua del modo prescrito, por ejemplo una vez, dos veces o tres veces al día, durante al menos siete días consecutivos, la forma de dosificación farmacéutica de acuerdo con la invención proporciona concentraciones mínimas en suero $C_{m\acute{i}n}$ de silibinina A libre (libre = no metabolizada ni unida a proteínas plasmáticas) de al menos 30 ng/ml, de forma especialmente preferente al menos 35 ng/ml, de forma todavía más preferente al menos 40 ng/ml, de forma incluso más preferente al menos 45 ng/ml, de forma totalmente preferente al menos 50 ng/ml y en particular al menos 50 ng/ml.

30 En otra realización preferente, después de la administración oral continua del modo prescrito, por ejemplo una vez, dos veces o tres veces al día, durante al menos siete días consecutivos, la forma de dosificación farmacéutica de acuerdo con la invención proporciona concentraciones mínimas en suero $C_{m\acute{i}n}$ de silibinina A total (total = libre + metabolizada + unida a proteínas plasmáticas) de al menos 1.250 ng/ml, de forma especialmente preferente al menos 1.500 ng/ml, de forma todavía más preferente al menos 1.600 ng/ml, de forma incluso más preferente al menos 1.700 ng/ml, de forma totalmente preferente al menos 1.800 ng/ml y en particular al menos 1.900 ng/ml.

35 En otra realización preferente más, después de la administración oral continua del modo prescrito, por ejemplo una vez, dos veces o tres veces al día, durante al menos siete días consecutivos, la forma de dosificación farmacéutica de acuerdo con la invención proporciona concentraciones mínimas en suero $C_{m\acute{i}n}$ de silibinina A total (total = libre + metabolizada + unida a proteínas plasmáticas) de al menos 3.000 ng/ml, de forma especialmente preferente al menos 3.250 ng/ml, de forma todavía más preferente al menos 3.500 ng/ml, de forma incluso más preferente al menos 3.800 ng/ml, de forma totalmente preferente al menos 4.000 ng/ml y en particular al menos 4.200 ng/ml.

40 En una realización preferente, después de la administración oral continua del modo prescrito, por ejemplo una vez, dos veces o tres veces al día, durante al menos siete días consecutivos, la forma de dosificación farmacéutica de acuerdo con la invención proporciona concentraciones mínimas en suero $C_{m\acute{i}n}$ de silibinina B libre (libre = no metabolizada ni unida a proteínas plasmáticas) de al menos 0,5 ng/ml, de forma especialmente preferente al menos 1,0 ng/ml, de forma todavía más preferente al menos 1,5 ng/ml, de forma incluso más preferente al menos 2,0 ng/ml, de forma totalmente preferente al menos 2,5 ng/ml y en particular al menos 3 ng/ml.

45 En otra realización preferente más, después de la administración oral continua del modo prescrito, por ejemplo una vez, dos veces o tres veces al día, durante al menos siete días consecutivos, la forma de dosificación farmacéutica de acuerdo con la invención proporciona concentraciones mínimas en suero $C_{m\acute{i}n}$ de silibinina B total (total = libre + metabolizada + unida a proteínas plasmáticas) de al menos 2.000 ng/ml, de forma especialmente preferente al menos 2.250 ng/ml, de forma todavía más preferente al menos 2.500 ng/ml, de

forma incluso más preferente al menos 2.750 ng/ml, de forma totalmente preferente al menos 3.000 ng/ml y en particular al menos 3.250 ng/ml.

5 En otra realización preferente más, después de la administración oral continua del modo prescrito, por ejemplo una vez, dos veces o tres veces al día, durante al menos siete días consecutivos, la forma de dosificación farmacéutica de acuerdo con la invención proporciona concentraciones mínimas en suero C_{\min} de silibinina B total (total = libre + metabolizada + unida a proteínas plasmáticas) de al menos 3.000 ng/ml, de forma especialmente preferente al menos 3.100 ng/ml, de forma todavía más preferente al menos 3.200 ng/ml, de forma incluso más preferente al menos 3.300 ng/ml, de forma totalmente preferente al menos 3.400 ng/ml y en particular al menos 3.500 ng/ml.

10 Los especialistas saben perfectamente cómo medir las C_{\min} de las silibininas A y B libres así como de las silibininas A y B totales, respectivamente.

En una realización preferente de la invención, la forma de dosificación farmacéutica que contiene la silibinina amorfa está adaptada para una terapia adicional, preferentemente para terapias combinadas inmunomoduladoras/antivíricas tales como interferón/ribavirina (véase más abajo).

15 Los siguientes ejemplos ilustran adicionalmente la invención, pero no están concebidas para limitar el alcance de la misma.

Ejemplo 1: Descripción completa detallada de la invención reivindicada

A.-1 DESGRASADO PREVIO DEL FÁRMACO

20 5.000 kg de frutos de cardo mariano se desgrasan previamente de forma mecánica. Los frutos de cardo mariano se separan mecánicamente de materiales extraños y partes metálicas tamizándolos a través de un tamiz de 1 cm y utilizando a continuación un separador magnético. En un molino que incluye 4 rodillos giratorios se lleva a cabo una trituración y prensado a temperatura ambiente y a una presión de 65 bar. Los frutos de cardo mariano parcialmente desgrasados se calientan en un transportador helicoidal a una temperatura de 40 - 50°C. El rendimiento de este paso de producción es variable y depende del tipo y el contenido de aceite de los frutos.

A.-2 EXTRACCIÓN

30 El fármaco previamente desgrasado se introduce en percoladores y se extrae con acetato de etilo a una temperatura de entrada de 62°C y 66°C. La extracción se lleva a cabo de forma continua. Control en el proceso: temperatura de entrada entre 62°C y 66°C. Método: la temperatura se comprueba tres veces al día (una por turno) y se registra en la documentación de lote. El agua contenida en los frutos de cardo mariano enriquece con el tiempo el contenido de agua del disolvente de extracción consistente en acetato de etilo. El contenido máximo de agua no ha de sobrepasar los 35 g/l. En caso necesario se lleva a cabo un ajuste con acetato de etilo. Control en el proceso: contenidos de agua titulación de $KF \leq 35,0$ g/l. Método: Ph. Eur. 2.5.32 - Microdeterminación de agua.

35 B.-1 FILTRACIÓN / CENTRIFUGACIÓN

Con el fin de eliminar partículas de fármaco residuales, el extracto obtenido se filtra a través de un filtro GAF (25 - 50 μ m). El extracto obtenido es transparente. Control en el proceso: transparencia (control visual).

C. CONCENTRACIÓN Y PURIFICACIÓN

40 Para eliminar el acetato de etilo, las impurezas solubles en agua y el aceite de cardo mariano, el concentrado previo se concentra bajo vacío con agitación a una temperatura $\leq 40^\circ\text{C}$ en un recipiente con agua. Las fases formadas en el reactor se separan por decantación. El precipitado se lava con aproximadamente 500 l de agua caliente. La temperatura de agua en la entrada es de 70 - 80°C. El agua en exceso se aspira. Control en el proceso: temperatura de concentración $\leq 40^\circ\text{C}$.

D.-1 SOLUCIÓN

45 Se prepara una solución que tiene 8 - 100 g/l de residuo seco disolviendo la torta resultante en etanol (contenido de agua 130 - 180 g/l) de acuerdo con la solubilidad del contenido. Después se calienta hasta reflujo. En cuanto se obtiene la solución, ésta se enfría a $< 30^\circ\text{C}$. La solución se ajusta con agua o etanol para alcanzar el contenido de agua deseado.

- Control en el proceso: contenido de agua mediante titulación de KF: 130 - 180 g/l. Método: Ph. Eur. 2.5.32 - Microdeterminación de agua. Control en el proceso: residuo seco: 8 - 100 g/l. Método: Ph. Eur. 2.8.16 - Residuo seco - Tinturas: en una placa de fondo plano se disponen 2,0 ml del extracto a examinar. Se evapora hasta sequedad sobre un balo de agua y se seca en un horno a una temperatura de 100°C a 105°C durante 3 horas. Después se deja enfriar en un desecador sobre gel de sílice anhidro y se pesa. El resultado se calcula en g/l.

D.-2 DESGRASADO

- La solución en etanol se desgrasa con hexano. Por tanto, la solución en etanol primero se satura con hexano y después, para eliminar los componentes no disueltos, se centrifuga a través de un separador de cámaras y se filtra a través de un filtro de placa. El desgrasado se lleva a cabo en una columna de partición en contracorriente con hexano. La solución en etanol se filtra a través de un filtro de mangas de 5 µm. El hexano de la fase de hexano se retira por destilación. El residuo oleaginoso se desecha. Control en el proceso: transparencia (control visual).

Método: la transparencia se controla visualmente tres veces al día.

15 E. CONCENTRACIÓN

La fase de etanol filtrada se concentra en un reactor a una temperatura máxima de 65°C bajo vacío y con agitación hasta obtener un 35 - 45% de residuo seco. Control en el proceso: temperatura de concentración ≤ 65°C.

F. FILTRACIÓN

- 20 El concentrado se filtra a través de un filtro de prensa de membrana. Hay dos fases: el filtrado en pasta y el líquido. La pasta se utiliza en los siguientes pasos.

G. SOLUCIÓN DEL FILTRADO SÓLIDO

- 25 Se prepara una solución que tiene 5 - 10 g/l de residuo seco disolviendo la pasta en etanol (contenido de agua 130 - 180 g/l). Control en el proceso: contenido de agua mediante titulación de KF: 130 - 180 g/l (véase D).

H. ADICIÓN DE CARBONO ACTIVADO

Después de disolver la pasta, a esta solución se le añade aproximadamente un 2% de carbono activado, calculado en relación con la sustancia seca, y el líquido se somete a reflujo para lograr un buen efecto de mezcla.

30 I.-1 FILTRACIÓN CON TEMPERATURA

El producto se filtra a una temperatura entre 50 y 60°C a través de un filtro de placa y se pasa a la concentración.

I.-2 CONCENTRACIÓN Y CRISTALIZACIÓN

- 35 La temperatura de concentración ha de ser ≤ 65°C bajo vacío hasta que se obtiene un residuo seco de un 35 - 45% y después el concentrado se enfría a ≤ 3°C y se cristaliza.

J. FILTRACIÓN

- 40 Después de enfriar el producto, éste pasa a través de un filtro de prensa de membrana para separar el sólido del líquido residual. Después se toma una muestra para determinar el contenido de silibinina. Si este contenido es < 95% y la suma de isosilibinina, silidianina y silicristina es > 1%, el proceso vuelve al punto G.- SOLUCIÓN DEL FILTRADO SÓLIDO, sin añadir carbono activado, hasta obtener un contenido de silibinina ≥ 95% y una suma de isosilibinina, silidianina y silicristina ≤ 1%. La determinación se lleva a cabo utilizando un método de cromatografía líquida en fase inversa de acuerdo con la Ph. Eur.

K.-1 LAVADO

La sustancia se lava con agua fría.

45 K.-2 PRIMER SECADO Y TRITURACIÓN PREVIA

El secado del producto se lleva a cabo en una secadora de vacío, preferentemente bajo una presión de 70 a 1 mbar y a una temperatura máxima de la camisa de secador $\leq 80^{\circ}\text{C}$. El extracto seco se tritura previamente a través de un tamiz de 1 mm.

L.-1 SOLUCIÓN FINAL Y FILTRACIÓN

- 5 La silibinina previamente triturada se disuelve en etanol $\geq 99,5\%$ (V/V) hasta obtener un 2% - 12% de residuo seco. La solución se calienta a reflujo durante 30 minutos en un reactor provisto de agitación e inmediatamente después se enfría a 40°C . Después de enfriarlo, el producto se filtra a través de un filtro de placa.

M.-1 SECADO FINAL Y TRITURACIÓN PREVIA

- 10 El secado final de la sustancia se lleva a cabo en:
- a) un secador atmosférico (secador por pulverización) a una temperatura de entrada entre 180°C y 200°C y una temperatura de salida entre 80°C y 120°C , para obtener un polvo seco con un contenido de etanol de alrededor de un 5% y un contenido de agua menor de un 1%; o
 - b) se concentra a un máximo de un 20% de residuo seco y después se seca directamente en el reactor, preferentemente a una temperatura de menos de 80°C , de forma especialmente preferente a $50 - 60^{\circ}\text{C}$ bajo vacío, para obtener un polvo seco. El extracto seco se tritura previamente a través de un tamiz de 2 mm.

M.-2 MOLIENDA

- 20 El producto se muele en un molino de púas alimentado con nitrógeno si más de un 3% del producto obtenido tiene un tamaño de partícula mayor de $180\ \mu\text{m}$, para obtener un polvo fino de tipo amorfo.

M.-3 SECADO POSTERIOR

El producto se somete a un secado posterior, en caso necesario, a una temperatura máxima de 80°C y una presión máxima de 40 mbar para obtener un polvo seco con un contenido de etanol residual por debajo del 1% y un contenido de agua por debajo del 3,5%.

- 25 M.-3 HOMOGENEIZACIÓN FINAL

El producto molido se mezcla en un cono durante 2 horas.

Ejemplo 2: Método XRPD cuantitativo para la determinación de la silibinina cristalina en silibinina amorfa (grado de carácter amorfo)

- 30 Se preparó una muestra de silibinina cristalina pura mediante recristalización de silibinina a partir de etanol. Después, la mezcla se resuspendió en etanol y se agitó lentamente a temperatura ambiente durante varias horas para asegurar la cristalización completa de la fase amorfa. De vez en cuando una muestra se sometió a XRPD y se midió el área bajo los picos a 2-theta: $20,7$, $22,3$ y $24,5^{\circ}$. Cuando ya no se observó ningún aumento más en el área de estos picos (espectro XRPD), la muestra se filtró, se secó y se utilizó como patrón de silibinina cristalina en los siguientes experimentos. La Figura 1A presenta el espectro XRPD de esta muestra.

- 35 Se obtuvo una muestra de silibinina amorfa mediante secado por pulverización (secador Buchi mini Spray B-290) de silibinina disuelta en etanol a 40°C , con una corriente de aire de 350 l/h, una temperatura de entrada de 100°C y un caudal de bombeo de 6 ml/min. La muestra amorfa obtenida se molió en un molino de bolas a 30 Hz durante 15 minutos para garantizar la amorfización completa. Antes y después de la molienda no se observó ningún cambio en el espectro XRPD. La Figura 1B muestra el espectro XRPD del patrón de Silibinina amorfa.

- 40 El patrón de silibinina amorfa se controló adicionalmente mediante DSC (DSC 200 F3 Maia Netzsch; $10^{\circ}/\text{min}$). En la Figura 2 se compara el DSC del patrón de silibinina cristalina (2A) con el DSC del patrón de silibinina amorfa (2B). La Figura 2C muestra los DSC de mezcla del patrón de silibinina amorfa con un 10% a un 100%, respectivamente, del patrón de silibinina cristalina. A partir de los datos arriba indicados es evidente que el patrón de silibinina amorfa utilizada en la evaluación de XRPD es la silibinina amorfa pura.

Para la evaluación cuantitativa de XRPD se utilizó ZnO (espectro XRPS, Figura 3A) como patrón interno. Para la determinación cuantitativa de la forma cristalina se eligieron tres picos característicos de silibinina

crystalina (2-theta; 20,7, 22,3 y 24,5°) y como referencia se utilizaron los picos a 2-theta: 56,6 y 62,8° del patrón interno (IS, ZnO), tal como muestra la Figura 3B.

- 5 Se prepararon ocho mezclas de aproximadamente 250 mg mezclando 50 mg del patrón interno, X mg de silibinina cristalina e Y mg de silibinina amorfa, teniendo en cuenta que $X + Y = 200$ mg. Los valores X e Y variaron tal como se muestra en la siguiente tabla:

Muestra	Patrón interno (ZnO; mg)	Silibinina cristalina X (mg)	Silibinina amorfa Y (mg)	% cristalino
Pat. 1	49,94	20,02	180,07	10
Pat. 2	50,05	49,96	150,05	25
Pat. 3	50,09	69,98	130,07	35
Pat. 4	49,91	99,91	100,08	50
Pat. 5	50,09	120,01	79,98	60
Pat. 6	50,03	150,01	50,16	75
Pat. 7	50,10	170,07	29,96	85
Pat. 8	50,08	200,11	-	100

Las mezclas se transfirieron a viales y se agitaron a temperatura ambiente durante 1 hora para la homogeneización de la muestra utilizando un agitador rotatorio (FALC F205).

- 10 Para reducir al mínimo los efectos debidos a la orientación preferencial producida por la tendencia del polvo cristalino y su posicionamiento sobre la muestra más antigua junto con la posible falta de homogeneidad de la muestra, cada muestra se posicionó sobre el soporte de muestras y se midió tres veces.

Los espectros XRPD se obtuvieron utilizando un difractómetro X'Pert de PANalytical utilizando los siguientes parámetros para la adquisición y el procesamiento de datos:

- 15 Longitud de onda:
 $K\alpha_1$ (A° : 1,540598)
 $K\alpha_2$ (A° : 1,544426)
 Relación de intensidad $K\alpha_2/K\alpha_1$: 0,50

- 20 Recorrido de haz incidente, radio 240 mm
 Tubo de rayos X: ánodo Cu, tensión 40 kV, corriente 40 mA, tipo: PW3373/00 Cu LFF
 Movimiento de muestra: giro (1 s)
 Eje de exploración: gonio
 Intervalo de exploración: 19,9970-65,0004°
 Tamaño de paso: 0,0167°
 25 N de puntos: 2693
 Modo de exploración: continua
 Tiempo de conteo: 50,165 s
 Detector: X'celerator RTMS
 PHD inferior: 39,5%
 30 PHD superior: 80,0%

Modo de exploración, longitud activa 2,122°

Todos los datos se procesaron mediante el *software* TQ analyst 8.0.0.254 utilizando el algoritmo de mínimos cuadrados parciales (PLS) y la normalización de relación de picos.

- 35 Para la determinación cuantitativa se utilizaron tres regiones (2 theta).

20,16-21,00
 21,76-22,59
 24,02-24,77

Para el patrón interno se consideró la región (2 theta): 55,56-63,87.

- 40 La Figura 3C muestra espectros de mezclas patrón 1-8.

Todos los datos obtenidos se procesaron tal como se describe más arriba. Las mezclas patrón 4 y 5 se desecharon debido a una diferencia entre el valor calculado y el valor real mayor del 10%. La Figura 4

muestra el diagrama de calibración resultante para 6 puntos. El coeficiente de correlación es de 0,00004, la desviación cuadrática media (*root mean squared error calibration* - RMSEC) es de 1,46, la recuperación oscila entre el 95,9 y el 108%, la repetibilidad es: C.V. < 4,1%, la precisión intermedia es C.V. < 3,0%.

- 5 Para la silibinina cristalina en la silibinina amorfa se comprobó que el límite de detección (LOD) era del 0,5% y el límite de cuantificación (LOQ) es del 1,0%.

Estos parámetros se obtuvieron preparando y midiendo mezclas de un 0,25, un 0,5 y un 1% de silibinina cristalina y amorfa, tal como se describe más arriba.

Las Figuras 5A, B y C muestran espectros XRPD de silibinina amorfa con un contenido de un 0,25, un 0,5 y un 1% de silibinina cristalina, respectivamente.

- 10 Estos datos indican que este método sirve para cuantificar con una precisión muy alta una cantidad entre un 1% y un 100% de silibinina cristalina en la silibinina amorfa utilizando una técnica XRPD.

Ejemplo 3: Evaluación XRPD de silibinina cristalina en silibinina amorfa producida mediante el método de esta invención

- 15 Varios lotes de silibinina producida de acuerdo con el método de la invención, incluyendo los pasos L y M, se analizaron utilizando el método XRPD descrito en el ejemplo 2.

La Figura 6 muestra un espectro XRPD representativo de esta producción de silibinina amorfa.

La evaluación cuantitativa destaca que la silibinina cristalina en la silibinina amorfa no es mayor de un 5% y normalmente no es detectable o es menor de un 1%.

- 20 La solubilidad de este producto (HPLC - Ph. Eur. 01/2007:2071) después de 30 minutos es mayor de un 80%. Por el contrario, la silibinina obtenida de acuerdo con el método de la invención sin realizar los pasos L y M, aunque tiene una alta pureza química, es principalmente cristalina (normalmente cristalina en más de un 70%). La Figura 7 muestra un espectro XRPD representativo de la silibinina obtenida sin realizar los pasos L y M.

La solubilidad de este producto (HPLC - Ph. Eur. 01/2007:2071) después de 30 minutos es inferior al 80%.

- 25 **Ejemplo 4: estabilidad de la silibinina amorfa pura obtenida de acuerdo con este procedimiento en comparación con la estabilidad de la silibinina amorfa contaminada con el compuesto cristalino (evaluación XRPD)**

- 30 Unas muestras de silibinina obtenidas de acuerdo con la presente invención se almacenaron a $4 \pm 2^\circ\text{C}$ con una H.R. de un 60%, $25 \pm 2^\circ\text{C}$ con una H.R. de un $60 \pm 5\%$ y $40 \pm 2^\circ\text{C}$ con una H.R. de un $60 \pm 5\%$ en una bolsa de polietileno simple durante 2 meses. Después de este tiempo, las muestras se analizaron mediante XRPD. La Figura 8A presenta espectros XRPD de estas muestras. Se comprobó que la silibinina morfa pura era estable en cada condición.

- 35 Por el contrario, la estabilidad de las muestras de silibinina amorfa que contenían aproximadamente un 10% de silibinina cristalina dio lugar a un aumento de la cristalización cuando ésta se almacenó en una bolsa de polietileno simple durante 2 meses, $25 \pm 2^\circ\text{C}$ con una H.R. de un $60 \pm 5\%$, tal como se puede ver en la Figura 8B.

Reivindicaciones

1. Método para preparar silibinina amorfa que comprende los siguientes pasos:
 - A.) extraer silibinina con un disolvente que tiene una polaridad moderada;
 - B.) separar la fase de disolvente de los residuos sólidos;
 - 5 C.) concentrar la fase de disolvente a una temperatura menor de 60°C;
 - D.) combinar el concentrado obtenido en el paso C.) con etanol o un disolvente prótico con un momento dipolar inferior a 2 Debye y después combinar el mismo con hexano, concentrar la mezcla y retirar la fase de hexano;
 - E.) concentrar el residuo obtenido en el paso D.);
 - 10 F.) separar la fase sólida;
 - G.) combinar la fase sólida obtenida en el paso F.) con etanol o un disolvente prótico con un momento dipolar inferior a 2 Debye;
 - H.) añadir carbono activado;
 - I.) separar el carbono de la fase líquida, concentrar el líquido y cristalizar la silibinina a partir del mismo;
 - 15 J.) separar los cristales obtenidos en el paso I.) de la fase líquida y en caso necesario repetir los pasos G.), I.), J.) para enriquecer la silibinina a un contenido de más de un 95% en peso;
 - K.) opcionalmente, filtrar, lavar, secar y en caso necesario repetir estos pasos;
 - L.) combinar el material obtenido den el paso K.) con un alcohol anhidro, someterlo a reflujo, enfriar y concentrar;
 - 20 M.) secar, moler y homogeneizar el polvo fino de tipo amorfo obtenido; siendo el material de partida cardo mariano o una parte del mismo.
2. Método según la reivindicación 1, caracterizado porque, en el paso A.), el disolvente de polaridad moderada se selecciona entre el grupo que comprende acetato de etilo, etanol y metanol.
- 25 3. Método según la reivindicación 1 o 2, caracterizado porque el paso A.) se lleva a cabo a una temperatura de 40 - 80°C.
4. Método según la reivindicación 3, caracterizado porque la temperatura es de 50 - 70°C.
5. Método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque la separación en los pasos B.), F.), I.) y/o J.) se lleva a cabo por filtración.
- 30 6. Método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque la concentración en los pasos C.), D.) y/o L.) y/o el secado K.) se llevan a cabo bajo vacío.
7. Método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque la concentración en el paso C.) se lleva a cabo a una temperatura inferior a 40°C.
- 35 8. Método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque en los pasos D.) y/o G.) se añade el etanol o el disolvente prótico que tiene un momento dipolar inferior a 2 Debye y el contenido de agua se ajusta a 130 - 180 g/l.
9. Método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque la concentración en el paso E.) se lleva a cabo a una temperatura inferior a 65°C.
- 40 10. Método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque la separación en el paso I.) y/o la concentración en el paso L.) se llevan a cabo a una temperatura inferior a 80°C.

11. Método según la reivindicación 10, caracterizado porque la temperatura está en el intervalo de 50-60°C.
12. Método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque, en el paso H.), el o los adsorbentes son carbono activado.
- 5 13. Método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque, en el paso L.), el alcohol anhidro es un alcohol C₁-C₄ anhidro.
14. Método según la reivindicación 13, caracterizado porque el alcohol C₁-C₄ anhidro es etanol.

Figura 1A

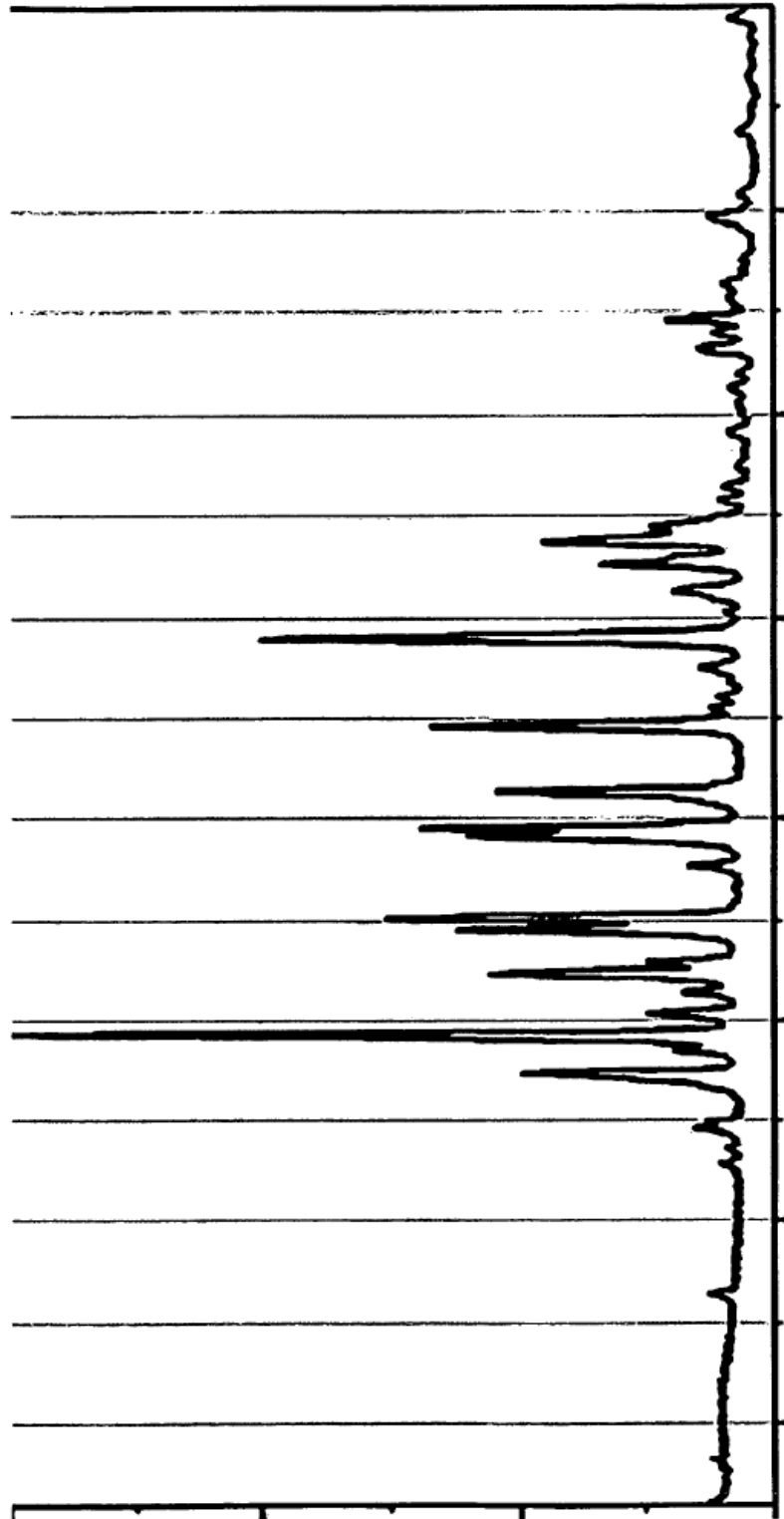


Figura 1B

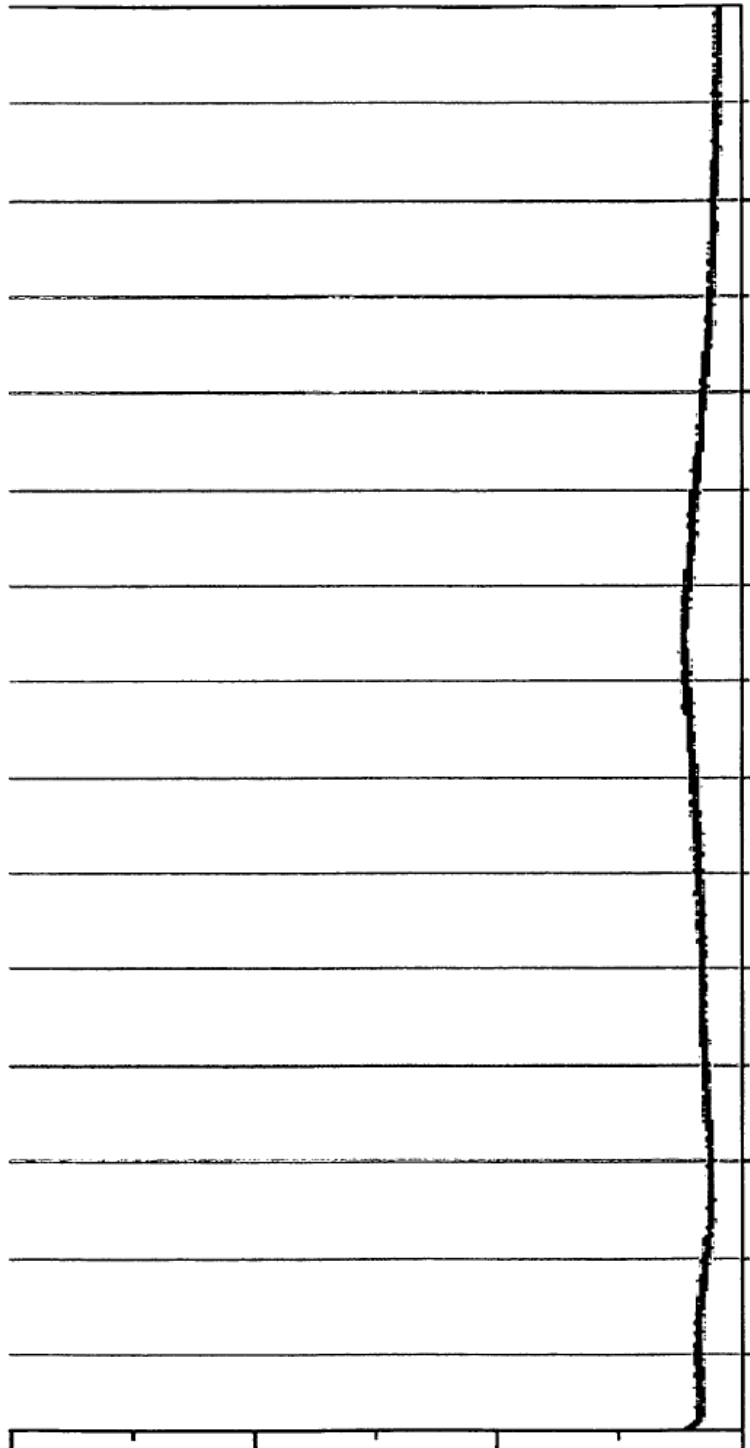


Figura 2A

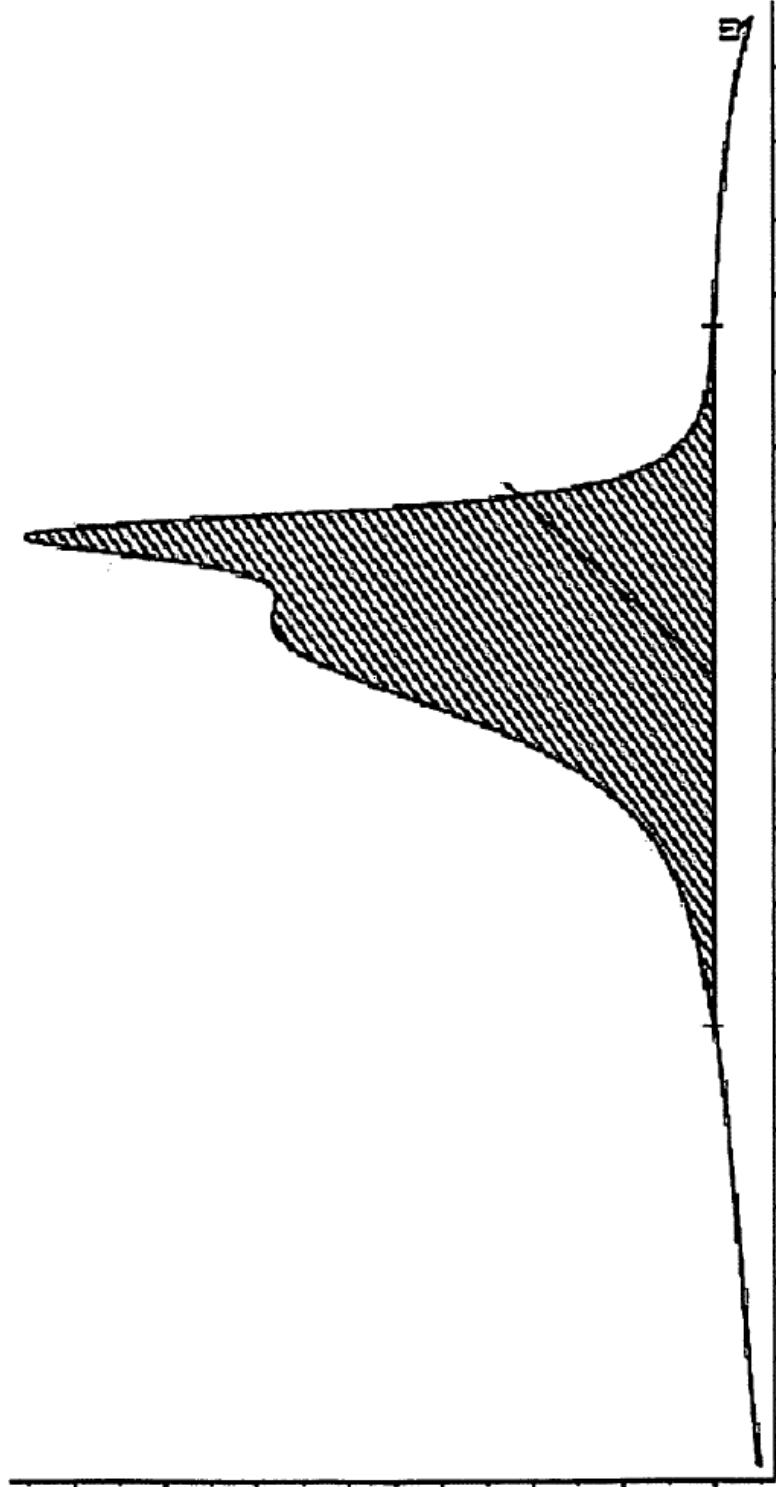


Figura 2B

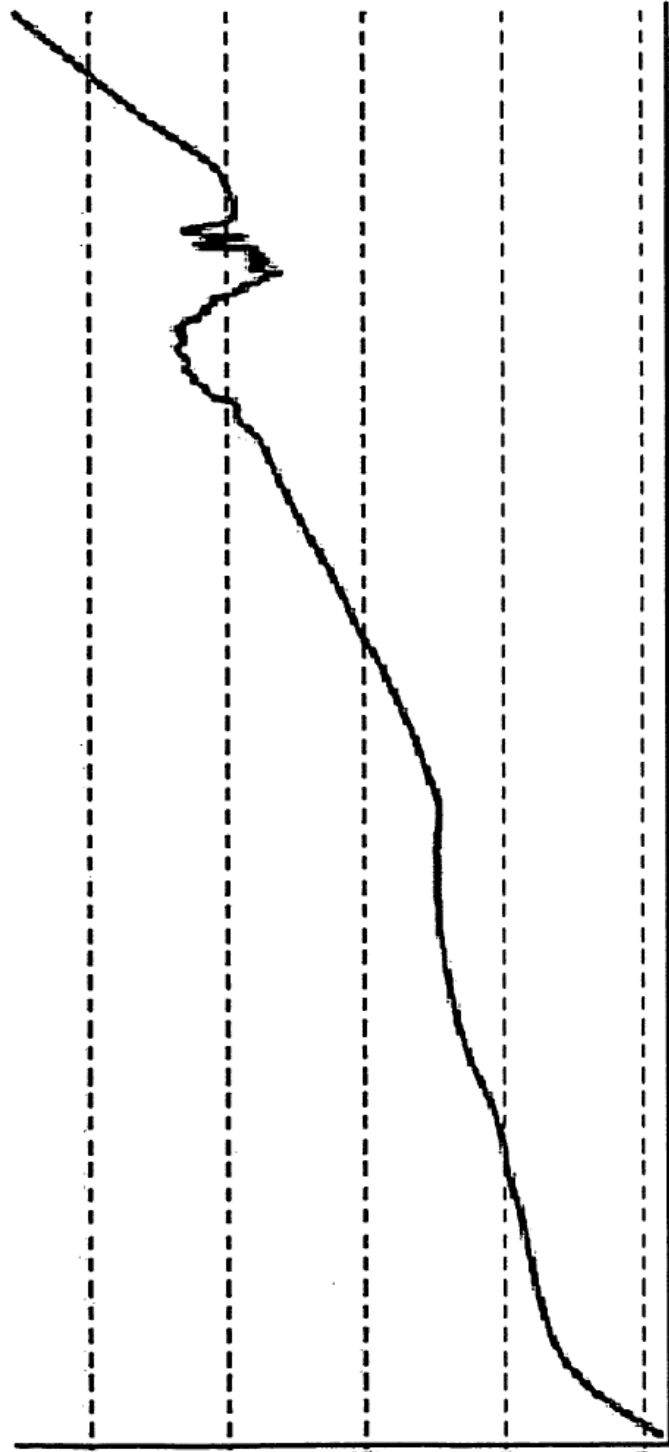


Figura 2C

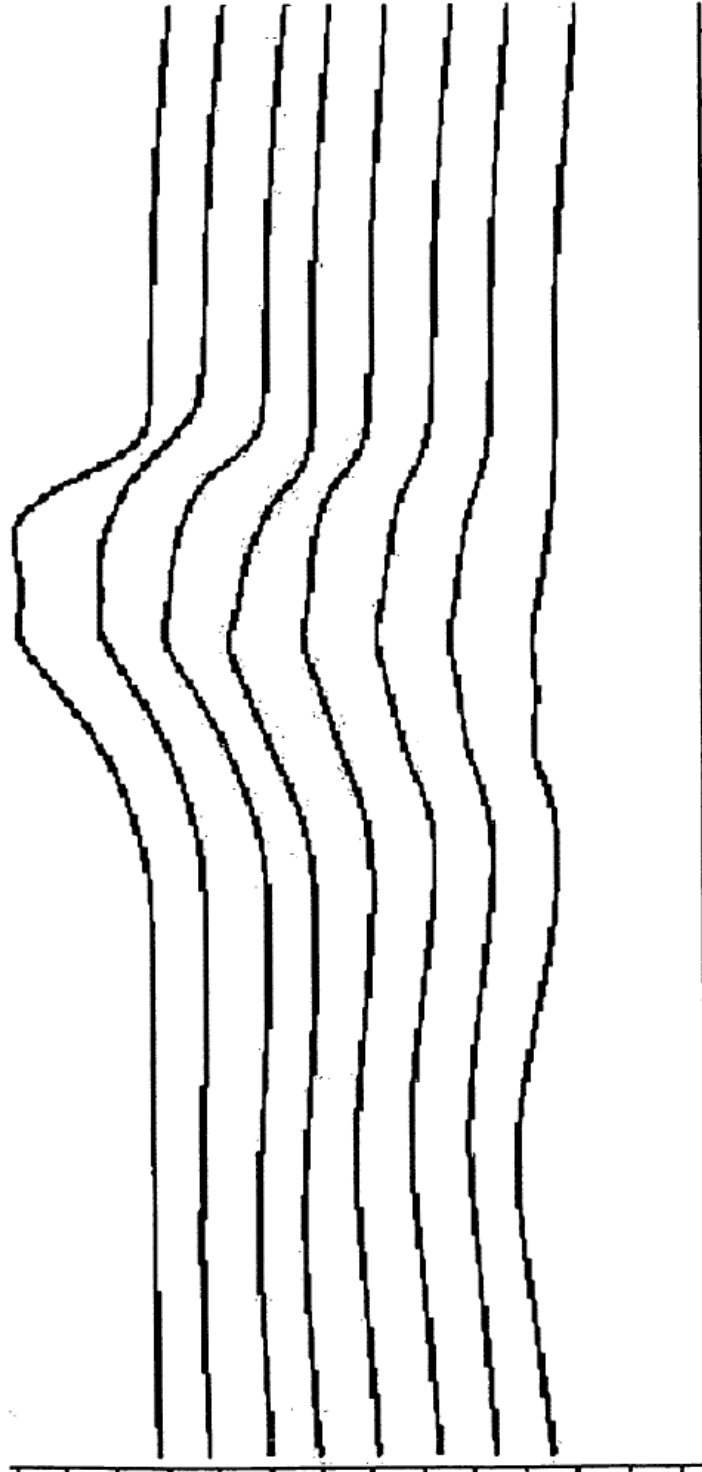


Figura 3A

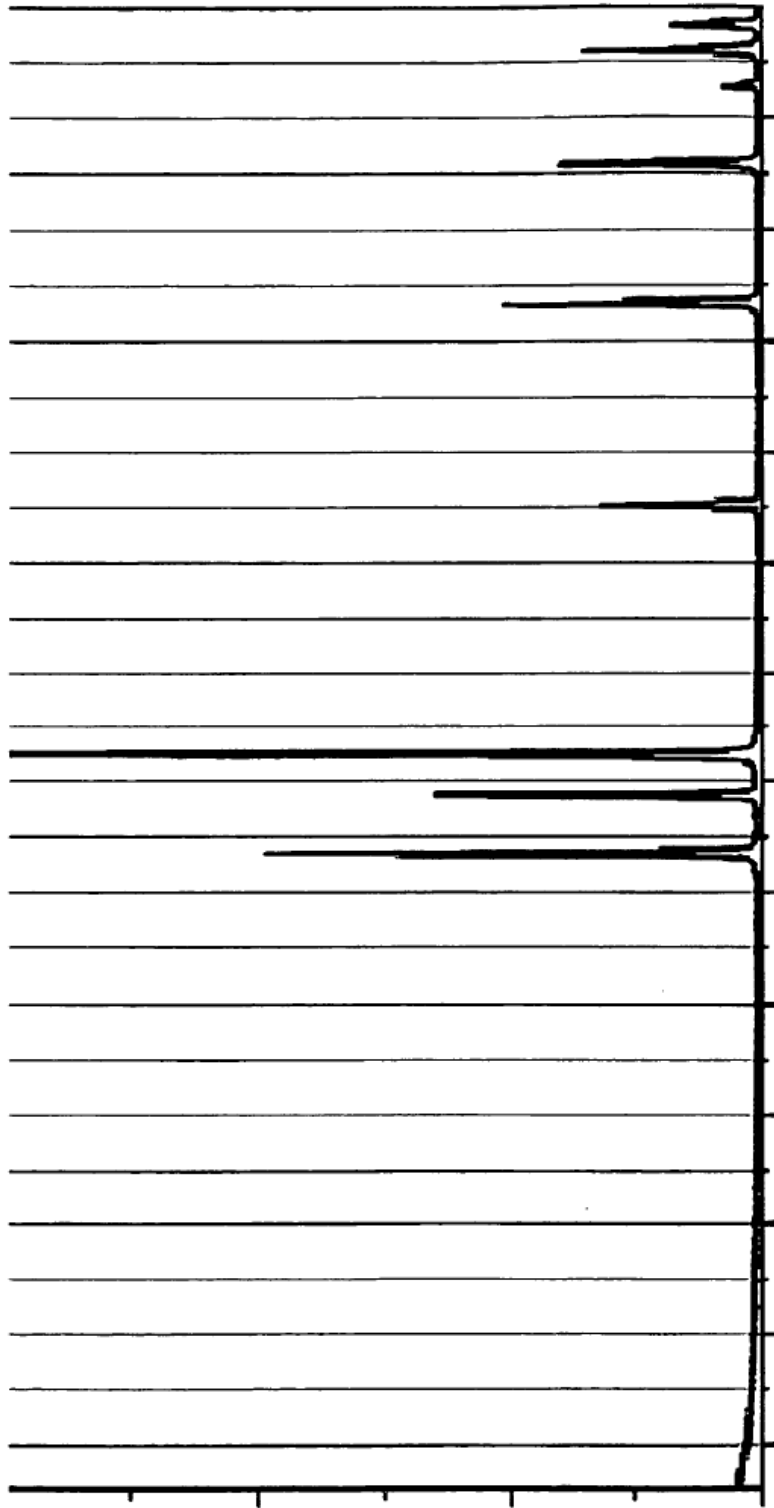


Figura 3B

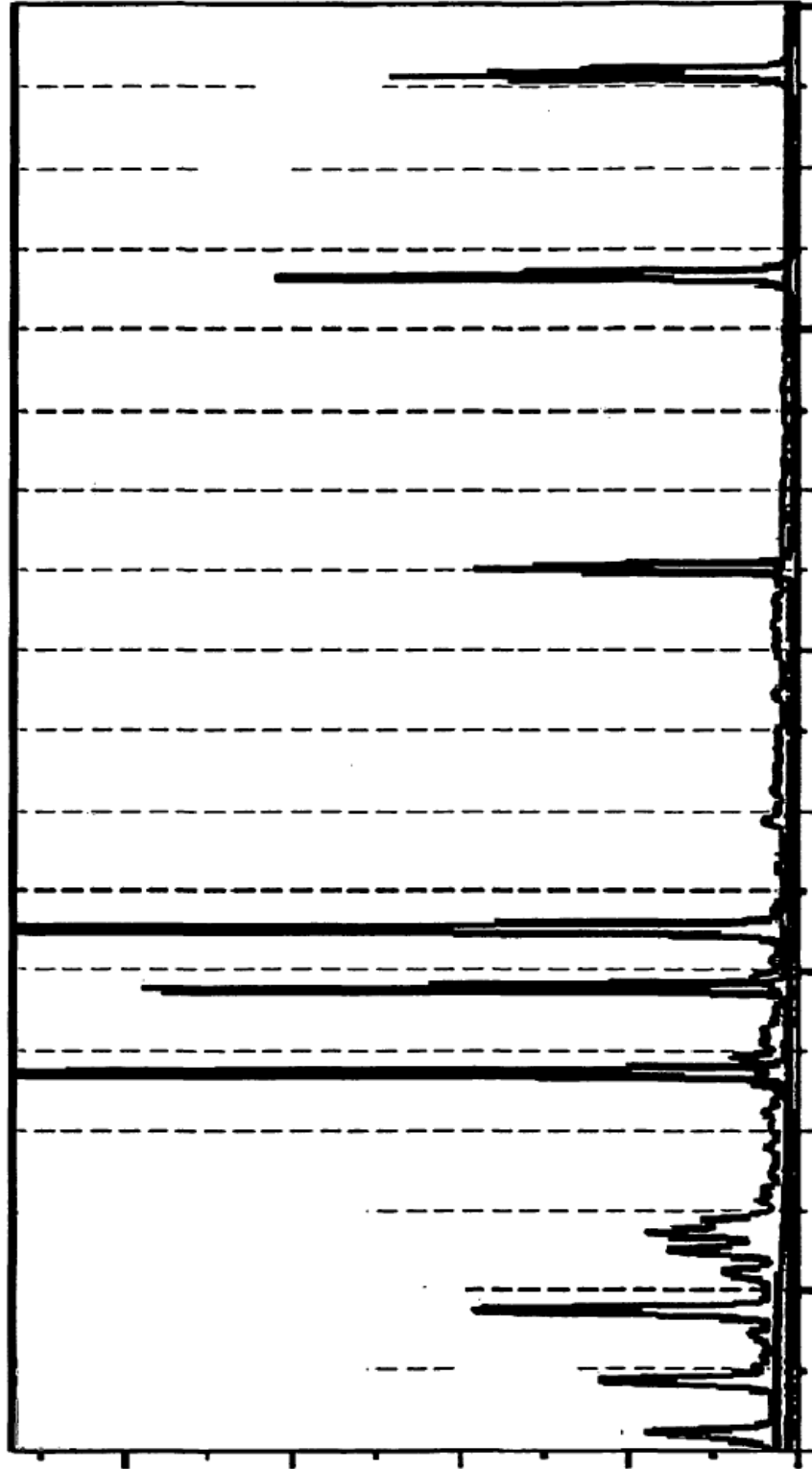


Figura 3C

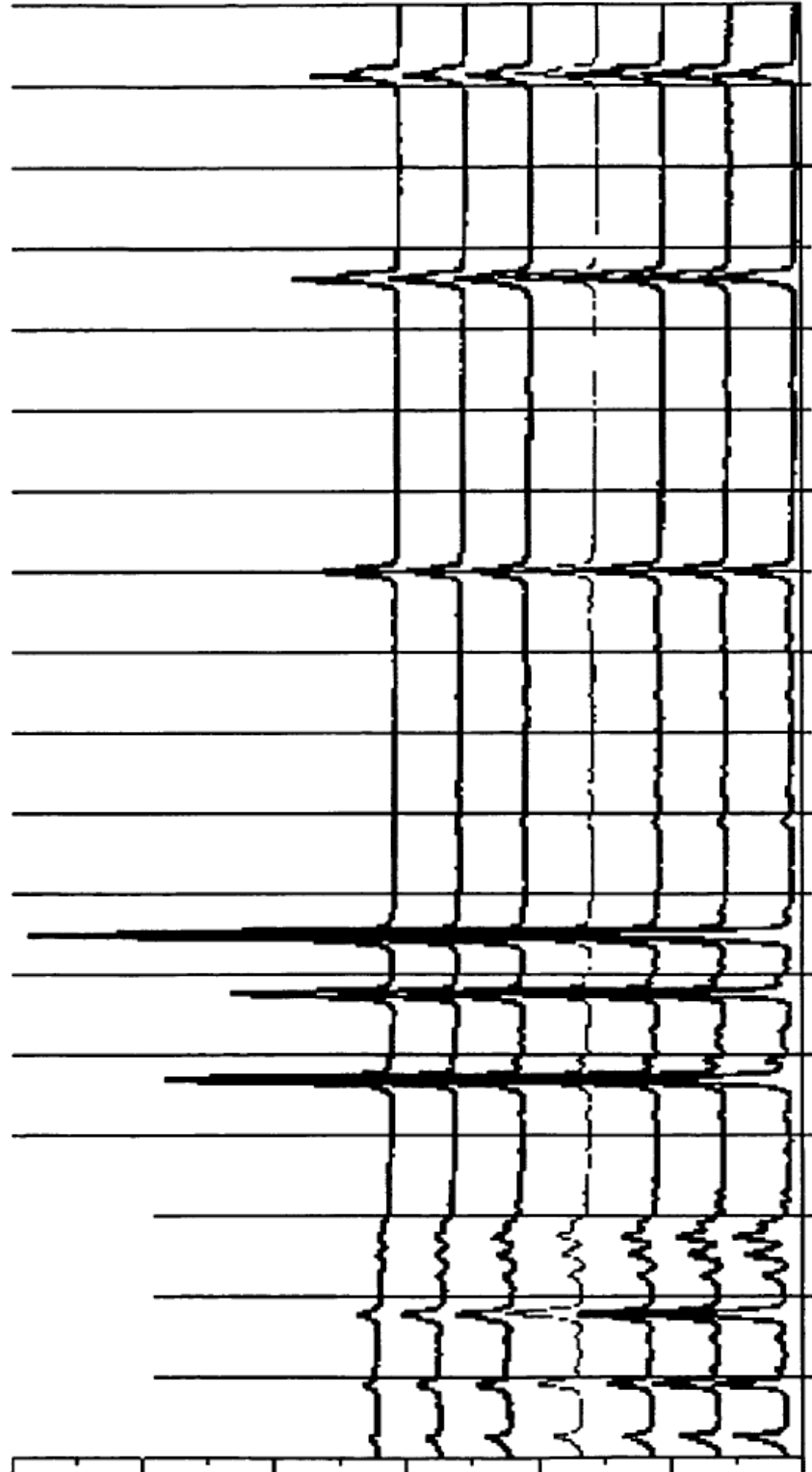


Figura 4

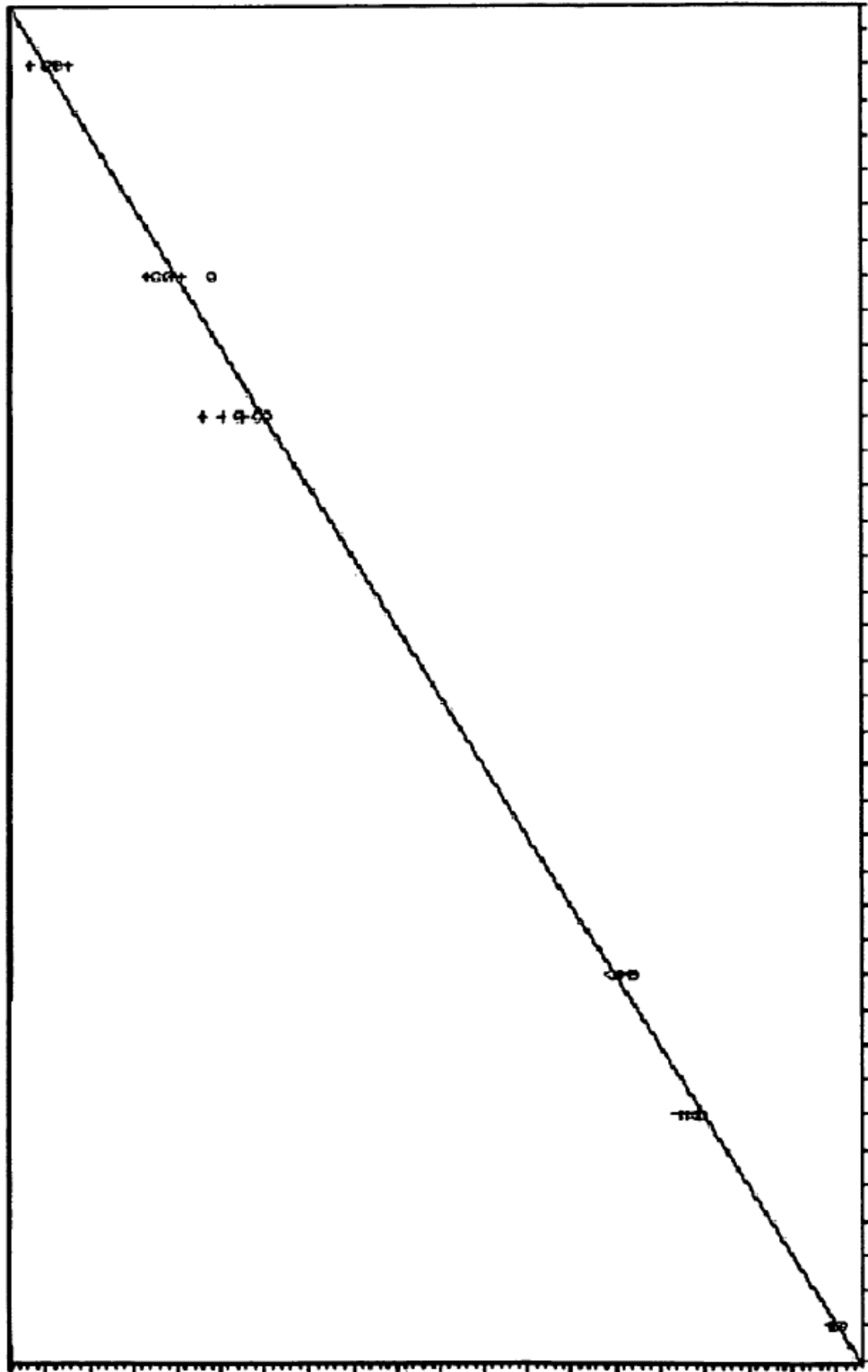


Figura 5A

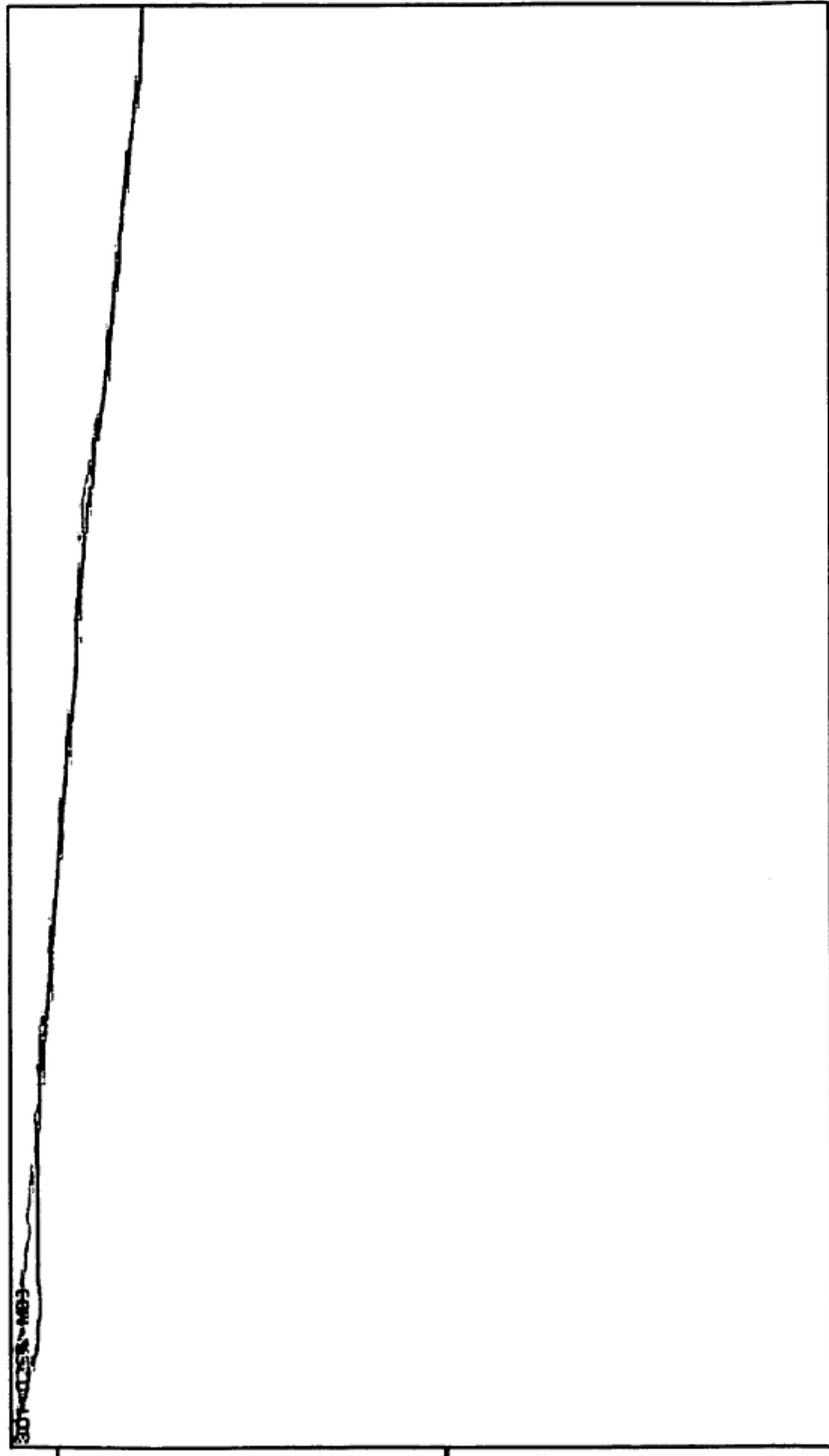


Figura 5B

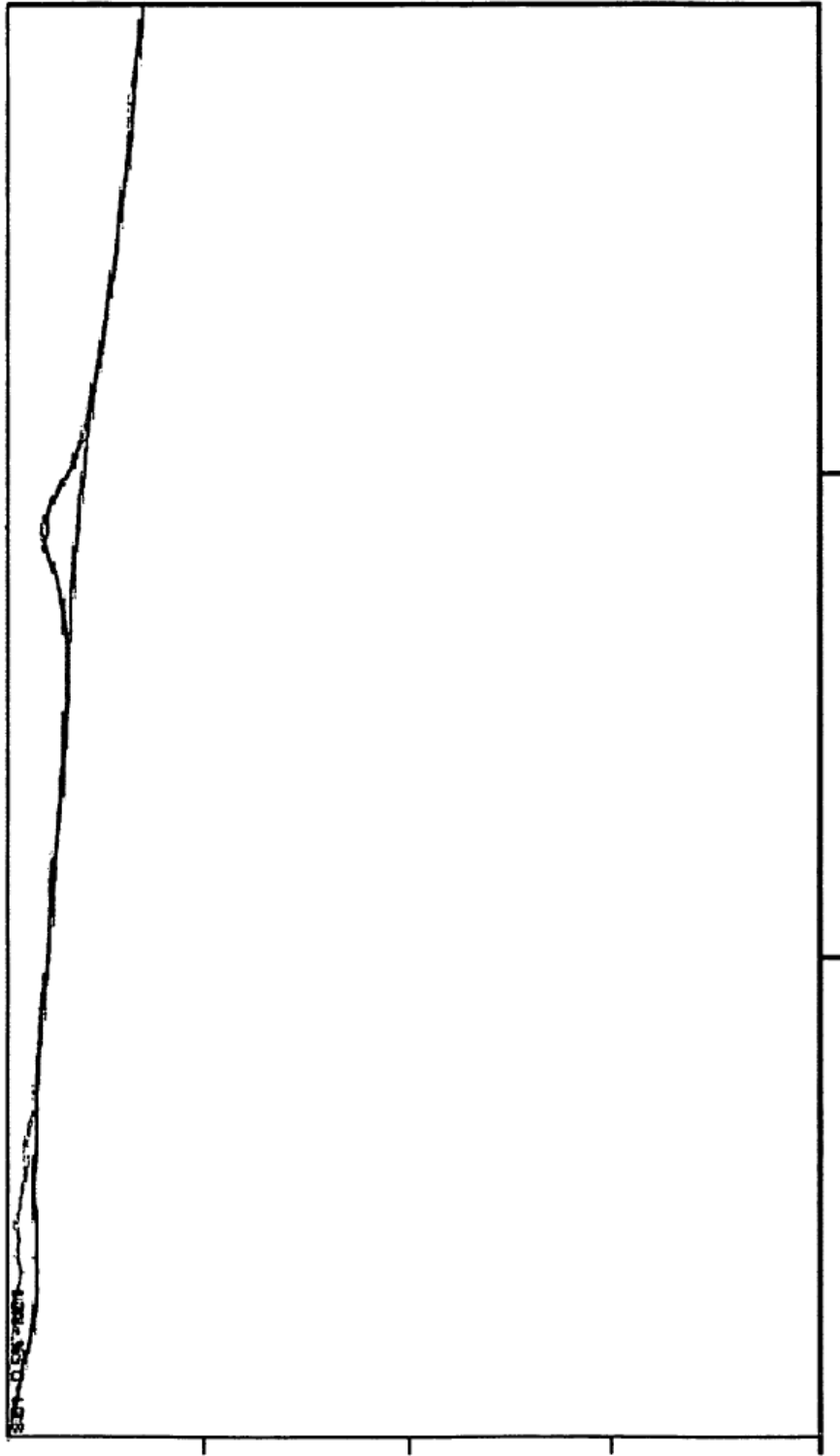


Figura 5C

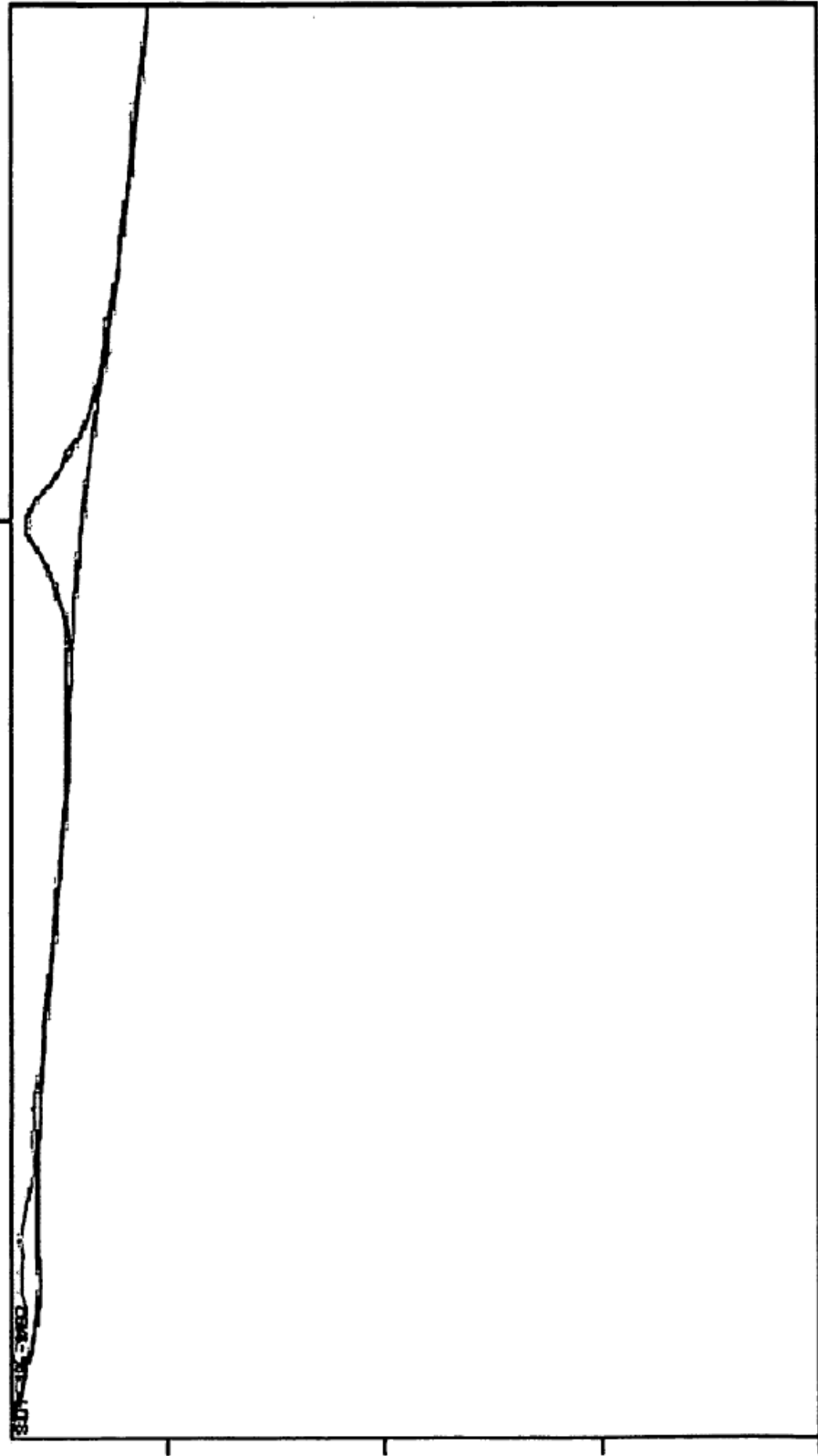
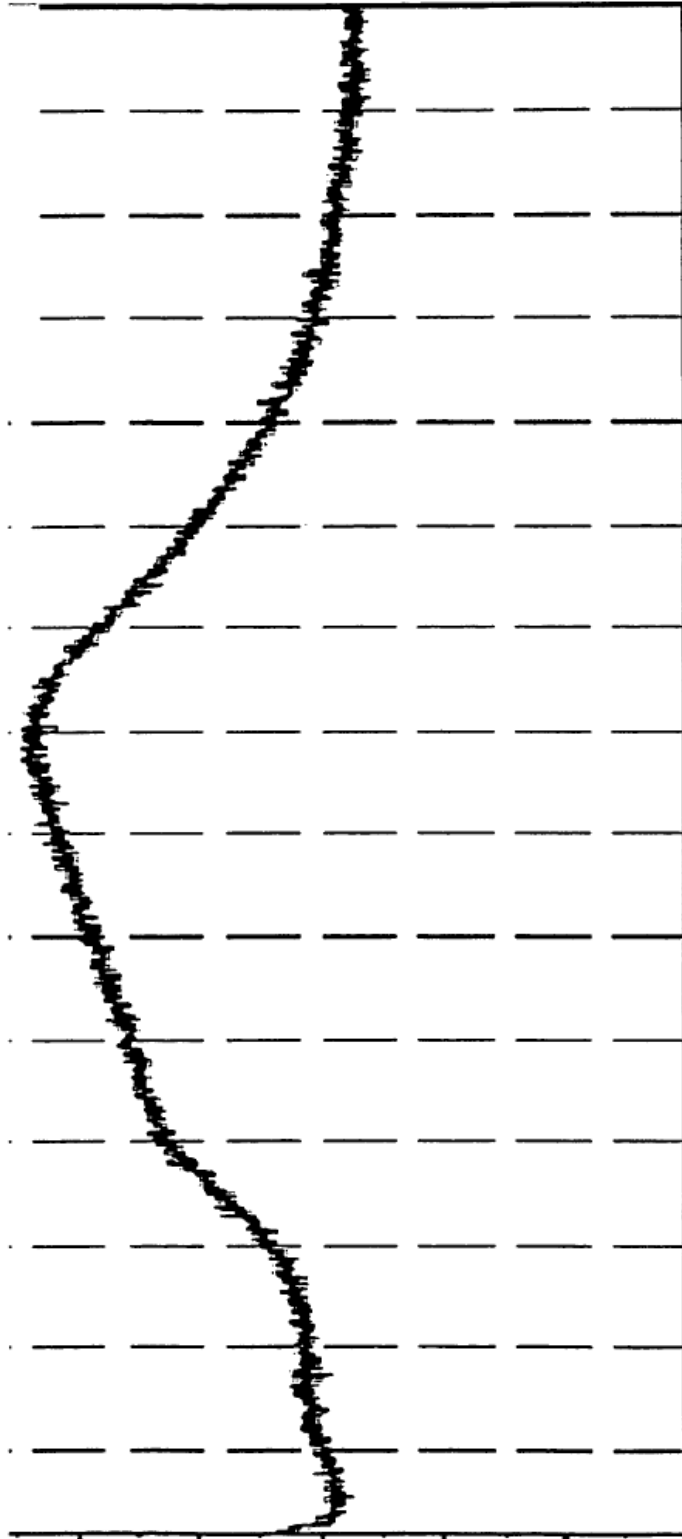


Figura 6



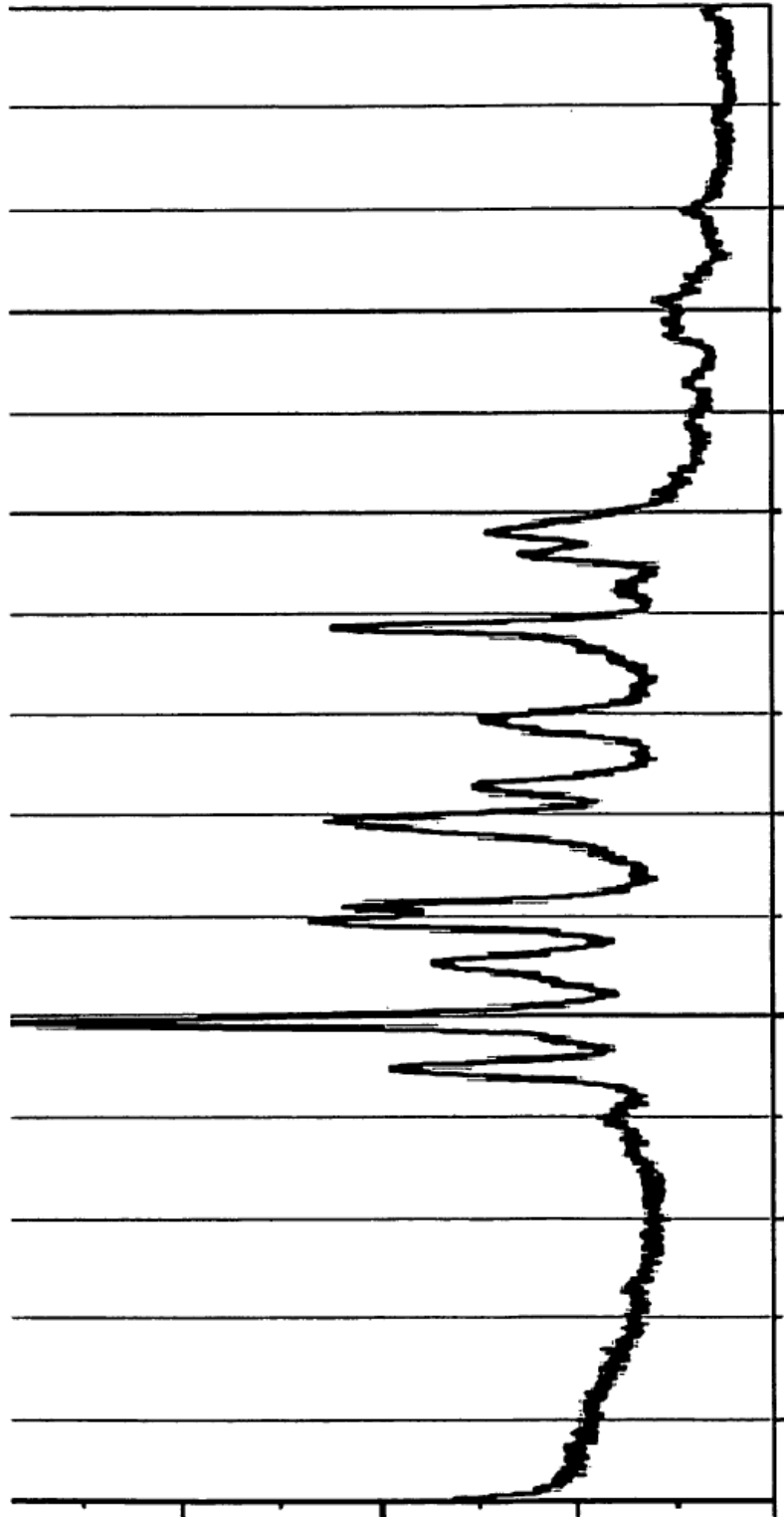


Figura 7

Figura 8A

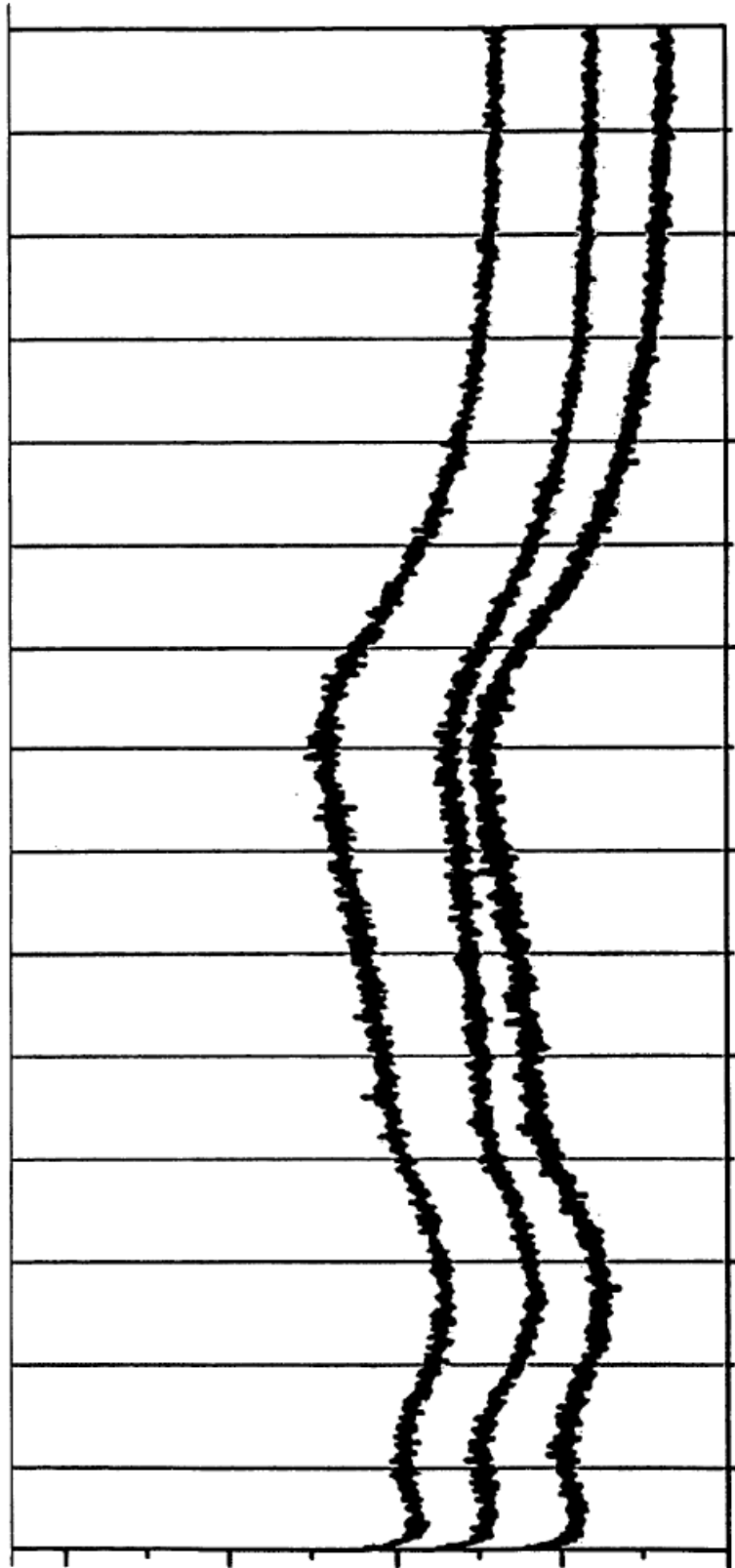


Figura 8B

