



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(51) МПК
C07D 455/03 (2006.01)
C07D 407/04 (2006.01)
A61K 31/4375 (2006.01)
A61K 31/352 (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01)
A61P 9/10 (2006.01)
A61P 19/02 (2006.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

C07D 455/03 (2006.01); C07D 407/04 (2006.01); A61K 31/4375 (2006.01); A61K 31/352 (2006.01); A61P 3/10 (2006.01); A61P 9/10 (2006.01); A61P 19/02 (2006.01)

(21)(22) Заявка: 2017123522, 06.01.2016

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
06.01.2016

Дата регистрации:
18.10.2018

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
07.01.2015 CN CN201510005381.7

(45) Опубликовано: 18.10.2018 Бюл. № 29

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 07.08.2017

(86) Заявка РСТ:
CN 2016/070229 (06.01.2016)

(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2016/110250 (14.07.2016)

Адрес для переписки:
105425, Москва, ул. 5 Парковая, 55, корп. 3, кв.
60, Аргасов Олег Вячеславович

(72) Автор(ы):

ДЭН Хаулей (CN),
У Вэй (CN),
ЧАНГ Чинчжо (CN),
ЛИН Чжэ (CN)

(73) Патентообладатель(и):

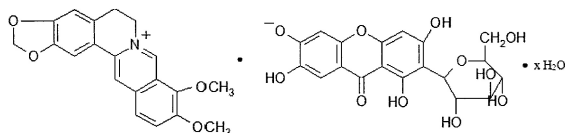
ЧАНЧЖОУ ДЕЦЕ МЕДИКЛ САЙЭНС
КО., ЛТД (CN)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: EP 2444094 A1, 25.04.2012. CN
103816153 A, 28.05.2014. RU 2223962 C2,
20.04.2004.

(54) СОЛЬ МАНГИФЕРИН-6-О-БЕРБЕРИНА, СПОСОБ ЕЕ ПОЛУЧЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЕ

(57) Реферат:

Изобретение относится к соли мангиферин-6-О-берберина, где соль мангиферин-6-О-берберина имеет структуру, которая определена следующей формулой:



(1)

где $0 \leq x \leq 4$.

Изобретение также относится к способу получения указанной соли и лекарственному средству на ее основе. Технический результат – получено новое соединение – соль мангиферин-6-О-берберина, которая может быть использована в качестве АМРК активатора и найти свое применение в медицине для лечения метаболических, кардиоваскулярных, неврологических и воспалительных заболеваний, рака и заболеваний мышечных систем. 5 н. и 7 з.п. ф-лы, 10 пр.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
C07D 455/03 (2006.01)
C07D 407/04 (2006.01)
A61K 31/4375 (2006.01)
A61K 31/352 (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01)
A61P 9/10 (2006.01)
A61P 19/02 (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

C07D 455/03 (2006.01); *C07D 407/04* (2006.01); *A61K 31/4375* (2006.01); *A61K 31/352* (2006.01); *A61P 3/10* (2006.01); *A61P 9/10* (2006.01); *A61P 19/02* (2006.01)

(21)(22) Application: 2017123522, 06.01.2016

(24) Effective date for property rights:
06.01.2016Registration date:
18.10.2018

Priority:

(30) Convention priority:
07.01.2015 CN CN201510005381.7

(45) Date of publication: 18.10.2018 Bull. № 29

(85) Commencement of national phase: 07.08.2017

(86) PCT application:
CN 2016/070229 (06.01.2016)(87) PCT publication:
WO 2016/110250 (14.07.2016)

Mail address:

105425, Moskva, ul. 5 Parkovaya, 55, korp. 3, kv.
60, Argasov Oleg Vyacheslavovich

(72) Inventor(s):

**TENG, Houlei (CN),
WU, Wei (CN),
ZHANG, Jingzhuo (CN),
LIN, Zhe (CN)**

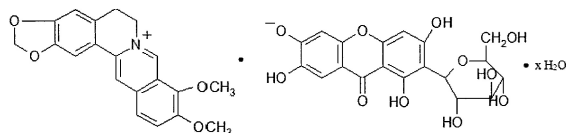
(73) Proprietor(s):

**CHANGZHOU DEZE MEDICAL SCIENCE
CO., LTD (CN)**(54) **SALT OF MANGIFERINE-6-O-BERBERINE, METHOD FOR ITS PRODUCTION AND APPLICATION**

(57) Abstract:

FIELD: chemistry.

SUBSTANCE: invention relates to a salt of mangiferine-6-O-berberine, wherein the salt of mangiferine-6-O-berberine has a structure that is defined by the following formula:



(1)

where $0 \leq x \leq 4$. Also, the invention relates to a process for the preparation of said salt and a drug on its basis.

EFFECT: new compound – the salt of mangiferine-6-O-berberine, which can be used as an AMPK activator and find its application in medicine for the treatment of metabolic, cardiovascular, neurological and inflammatory diseases, cancer and diseases of the muscular systems.

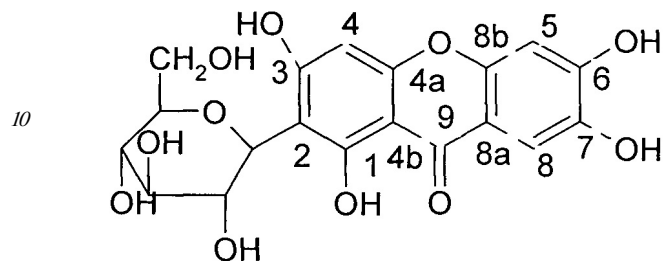
12 cl, 10 ex

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

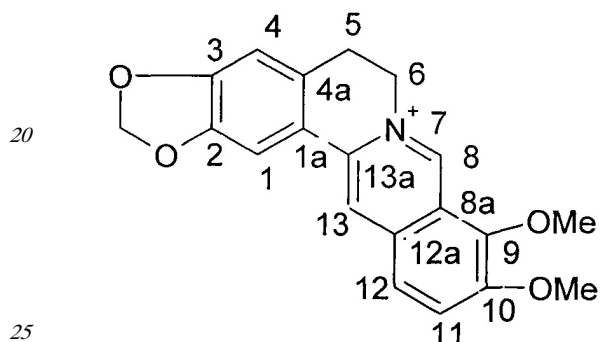
Настоящее изобретение относится к соли мангиферин-6-О-берберина, к способу ее получения и использования в качестве АМРК активатора.

ПРЕДШЕСТВУЮЩИЙ УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Мангиферин является натуральным полифенолом, имеющим структурную формулу $C_{19}H_{18}O_{11}$, молекулярный вес 422 и следующую химическую структуру:



Берберин является изохинолиновым алкалоидом, имеющим молекулярную формулу $[C_{20}H_{18}NO_4]^+$, молекулярный вес 336,37 и следующую химическую структуру:



Соль мангиферин-берберина получали путем ионной связи мангиферина и берберина, что раскрыто в WO 2010/145192 A1, под названием «СОЛЬ МАНГИФЕРИН-БЕРЕБЕРИНА, СПОСОБ ЕЕ ПОЛУЧЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЕ».

Впервые, стр. 5 до второго параграфа на стр. 7, в описании делается сравнение между ^{13}C -NMR спектром, 1H -NMR спектром соли мангиферин-берберина с мангиферином и берберином вещества прототипа. Таким образом, сделан вывод, что химическое окружение атомов в группах мангиферина и берберина изменено, что указывает на то, что группа мангиферина и группа берберина скомбинированы с образованием соли мангиферин-берберина.

Анализ структуры мангиферинов показывает, что четыре фенольных гидроксигруппы присутствуют в молекулярной структуре мангиферина, сайты солеобразования мангиферина имеют различные возможности, что увеличивает трудности выведения соли мангиферина с одного места солеобразования.

NMR данные соли мангиферин-берберина, раскрытые в WO 2010/145192 A1, указывают, что соль мангиферин-берберина должна быть композицией мангиферин 3-О-берберина и мангиферин 7-О-берберина. Однако, детали мангиферин 3-О-берберина и мангиферин 7-О-берберина, например, пропорция мангиферин 3-О-берберина и мангиферин 7-О-берберина, в WO 2010/145192 A1 не представлены.

Протеинкиназа (АМРК), активированная монофосфат аденозином (АМР), является протеинкиназой, которая регулирует энергию метаболизма в клетках. Дополнительные исследования АМРК показывают, что АМРК играет критическую роль в лечении метаболических заболеваний, сердечно-сосудистых заболеваний, неврологических и воспалительных заболеваний, рака и заболеваний мышечных систем. АМРК становится

новой целью при лечении болезней. Однако, еще нет на рынке активатора АМПК. Исследования и развитие активаторов АМПК имеют важное клиническое значение (Li Ji, АМПК: New Treatment **Tarret** of Diabetes and Cardiovascular Diseases, China Medical Tribune, 2009, (1149); Ren **Junfan**, АМПК and Cardiovascular **Remodeling**, Journal of International *Pathology* and Clinical Medicine, 2008, 28(1): 33-36; Ricardo **Lare**, Carlos **Dieguez**, Antonio Vidal-**Puig**. et al., АМПК: Metabolic **Gaure Regulatin**g Whole-Body **Energy** Homeostasis, Trends Mol Med, 2008, 14(12): 539-49; Fu **Qingyung**, **Gao** Yuli, Advances in Studies of AMP-Activated Protein Kinase, Chinese Bulletin of Life Sciences, 17(2): 147-152; Chen Qi, **Liang** Houjie, Zou Lan, et al., Expression of **Cyclooxygenase-2** by Activation of Adenosine Monophosphate Protein Kinase and Relationship Between Expression and Chemosensitivity of 5-Fluorouracil in Colon Cancer. Practical Journal of Clinical Medicine, 2008, 5(3): 56-58 и подобное).

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В соответствии с требованиями относительно новых лекарств, структура активных фармацевтических ингредиентов новых лекарств должна быть ясной и определенной. Если активные фармацевтические ингредиенты являются композицией, то пропорция ингредиентов должна быть четко определена, чтобы соответствовать требованиям квалифицированного контроля. Поэтому, каким образом вывести соль мангиферин-берберина с одного места солеобразования является технической проблемой, которая должна быть срочно решена для использования соли мангиферин-берберина в качестве активного фармацевтического ингредиента.

Второе, способ получения соли мангиферин-берберина описан детально в третьем абзаце к третьему абзацу снизу на стр. 4 и в примерах 1-6 следующим образом:

1. Растворитель и мангиферин добавляют в реактор для выведения суспензии мангиферина и затем водный щелочной раствор натриевой соли (калиевой соли) добавляют в суспензию и осуществляют реакцию до образования ясного раствора. Полученный раствор фильтруют, чтобы вывести раствор А.

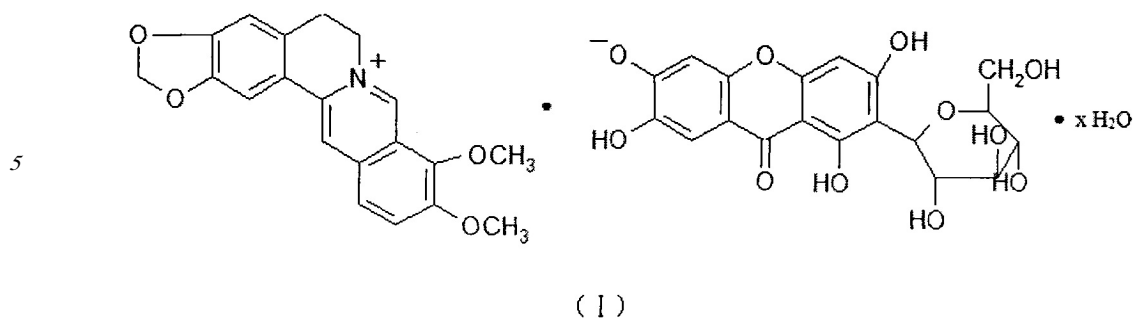
2. Берберин добавляют к воде для растворения и затем раствор фильтруют для выведения раствора В.

3. Раствор А по каплям медленно добавляют к перемешиваемому раствору В и затем раствор продолжительно перемешивают до завершения реакции. В таком случае получают осадок. Результирующий раствор фильтруют для выведения осадка. Осадок высушивают для выведения соли мангиферин-берберина.

4. Растворитель, описанный в патентном описании, является единичным или смесью воды и одного или, по меньшей мере, двух органических растворителей, которые способны смешиваться с водой, такие, как этанол, метанол, ацетон и подобные. Пропорциональный объем с водой составляет 10-90% (v/v).

Известно из способа получения, раскрытого в WO 2010/145192 A1, что такие органические растворители, как этанол, метанол, ацетон и подобные, являются не только дорогостоящими, но также загрязнителями окружающей среды в промышленном производстве.

Настоящее изобретение обеспечивает соль мангиферин-6-О-берберина, которая имеет структуру, определенную следующей формулой (1):



10 В формуле (1) $0 \leq x \leq 4$.

В соли мангиферин-6-О-берберина в соответствии с настоящим изобретением $x=2$.

Настоящее изобретение дополнительно обеспечивает способ получения соли мангиферин-6-О-берберина. Способ включает в себя следующие стадии:

15 (1) добавление щелочной соли натрия или соли калия в воду для выведения щелочного водного раствора соли натрия или щелочного водного раствора соли калия, при этом раствор имеет концентрацию 0.1%-2% (w/v);

(2) растворение мангиферина в диметилсульфоксиде для выведения раствора мангиферина;

20 (3) медленное добавление раствора мангиферина в щелочной водный раствор соли натрия или в щелочной водный раствор соли калия, полностью перемешивая растворы до того, как растворы полностью отреагируют при температуре 50°C-100°C для выведения раствора натриевой соли мангиферин-6-О или раствора калиевой соли мангиферин-6-О;

25 (4) добавление гидрохлорида берберина в воду при температуре 50°C-100°C для выведения раствора гидрохлорида берберина;

(5) полное смешение раствора гидрохлорида берберина с раствором соли мангиферин-6-О-натрия или с раствором соли мангиферин-6-О-калия до полной реакции, выводя осадок, фильтруя осадок, чтобы вывести твердые составляющие; и

30 (6) высушивание твердых составляющих, чтобы вывести соль мангиферин-6-О-берберина.

В способе получения соли мангиферин-6-О-берберина в соответствии с настоящим изобретением соотношение мангиферина к диметилсульфоксиду составляет 1:0.2-5 (w/v). В способе получения соли мангиферин-6-О-берберина в соответствии с настоящим изобретением молярное соотношение мангиферина к щелочной натриевой соли или к щелочной калиевой соли составляет 1:0.5-1.

В способе получения соли мангиферин-6-О-берберина в соответствии с настоящим изобретением молярное соотношение соли мангиферин-6-О-натрия или соли мангиферин-6-О-калия к гидрохлориду берберина составляет 1:1.

40 В способе получения соли мангиферин-6-О-берберина в соответствии с настоящим изобретением щелочная натриевая соль или щелочная калиевая соль является единственной или смесью более, чем двух, выбранных из группы, состоящей из карбоната натрия, бикарбоната натрия, карбоната калия и бикарбоната калия; где гидрохлорид берберина способен к замещению сульфатом берберина или другой медицински приемлемой солью берберина.

45 Настоящее изобретение дополнительно обеспечивает лекарство, где лекарство содержит мангиферин-6-О-берберин как описано выше и фармацевтически приемлемый вспомогательный материал. Лекарство может быть приготовлено в любой клинически лекарственной форме для перорального применения такой, как таблетка, капсула,

гранула, раствор для перорального применения, суспензия для перорального применения, сироп, драже и подобное, препараты для внешнего применения такие, как гели, мази, кремы и подобное, и инъекции такие, как инъекция лиофилизированного порошка и подобное. Настоящее изобретение дополнительно обеспечивает применение

5 соли мангиферин-6-О-берберина в получении АМРК активатора.

Настоящее изобретение дополнительно обеспечивает применение лекарства, полученного путем использования соли мангиферин-6-О-берберина в качестве активного ингредиента в приготовлении АМРК активатора.

Ввиду важной роли АМРК в развитии заболеваний в современной медицине,

10 настоящее изобретение обеспечивает применение мангиферин-6-О-берберина в получении АМРК активатора. АМРК активатор может быть использован в предотвращении или в лечении любого одной или более из следующих болезней: диабет, хронические диабетические жалобы (включая в себя коронарные сердечные заболевания, атеросклероз, цереброваскулярное заболевание, диабетическую нефропатию,

15 диабетическую ретинопатию; нейропатию; синдром диабетической стопы; диабетическую макулопатию, катаракты, глаукому, рефрактивные изменения, болезни радужных оболочек и болезни цилиарного тела и подобное), ожирение, гиперлипидемия, инсулиновая сопротивляемость, гиперинсулиномия, метаболические синдромы, гипертензии, атеросклероз, ишемическая болезнь сердца, гипертрофия миокарда,

20 аритмия, сердечная недостаточность, повышенный доступ к респираторной инфекции, хронический бронхит, хроническая обструктивная пульмонарная болезнь, астма, пульмонарный фиброз, гепатит, простое увеличение печени, не связанная с алкоголем болезнь увеличения печени, не связанный с алкоголем стеатогепатит, алкогольная печень, алкогольный гепатит, фиброз печени, цирроз, простатит, панкреатит, нефрит,

25 нефротический синдром, гипертензивная нефропатия, хроническая почечная недостаточность, ревматический артрит, ревматоидный артрит, остеоартрит, воспалительное заболевание кишечника, церебральный инфаркт, снижение памяти, болезнь Альцгеймера, инфарктное слабоумие, болезнь Паркинсона, опухоли, мышечная атрофия, и болезнь мышечной слабости.

Настоящее изобретение дополнительно обеспечивает использование соли мангиферин-6-О-берберина в приготовлении лекарств для лечения грудной гиперплазии, маточных полипов, простатической гиперплазии, сексуальной дисфункции, бесплодия, экземы и усталости (изнуренности).

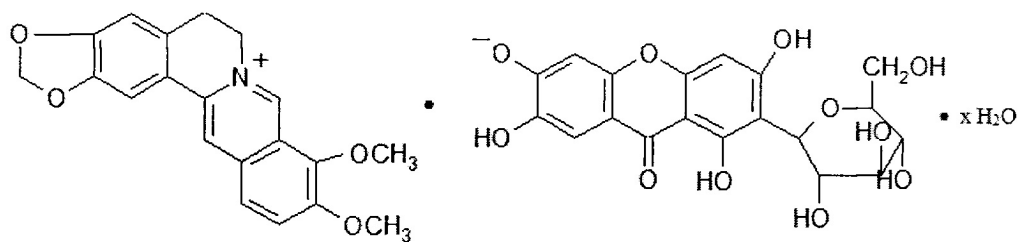
Доля эффективной дозы соли мангиферин-6-О-берберина в соответствии с настоящим

35 изобретением для лечения вышеуказанных заболеваний равна 37.5-600 мг/сутки на человека, предпочтительно 75-300 мг/сутки на человека; 1-3 раза в сутки, предпочтительно 2 раза в сутки. Полезность дозы применения может быть определена для специфической болезни, и пероральный прием предпочтителен.

Физический и химический составы соли мангиферин-6-О-берберина:

40 Соль мангиферин-6-О-берберина: молекулярная формула: $C_{20}H_{18}NO_4 \cdot C_{19}H_{17}O_{11} \cdot xH_2O$; порошок апельсинового (оранжевого) цвета; точка плавления: 177-179°C; почти не растворим в воде, слегка растворим в метаноле и разбавленной соляной кислоте. Химическая структура соли мангиферин-6-О-берберина следующая:

45



(1)

Спектральные данные соли мангиферин-6-О-берберина следующие:

ESI-MS(-) m/z 756(M⁻), 421; ESI-MS(+) m/z 336, 423; ¹HNMR(400MHz,DMSO-d₆) δ данные мангифериновой группы следующие: 4.56(H-1'), 6.01(H-5), 6.15(H-4), 6.88(H-8); ¹³CNMR(400MHz,DMSO-d₆) δ данные мангифериновой группы следующие: 161.51(C-1), 106.58(C-2), 163.06(C-3), 92.77(C-4), 155.55(C-4a), 103.74(C-4b), 98.64(C-5), 166.93(C-6), 147.03(C-7), 100.47(C-8), 100.53(C-8a), 154.37(C-8b), 176.73(C-9), 73.51(C-1'), 70.34(C-2'), 79.14(C-3'), 70.34(C-4'), 81.37(C-5'), 61.27(C-6'); ¹HNMR(400MHz,DMSO-d₆) δ данные бербериновой группы следующие: 3.2(H-5), 4.03(-OCH₃), 4.07(-OCH₃), 4.89(H-6), 6.13(-O-CH₂-O-), 7.01(H-4), 7.69(H-1), 7.86(H-12), 8.07(H-11), 8.78(H-13), 9.78(H-8); ¹³CNMR(400MHz,DMSO-d₆) δ данные бербериновой группы следующие: 105.33(C-1), 120.29(C-1a), 147.56(C-2), 149.71(C-3), 108.22(C-4), 130.45(C-4a), 26.28(C-5), 55.07(C-6), 145.06(C-8), 121.24(C-8a), 143.51(C-9), 150.15(C-10), 126.55(C-11), 123.33(C-12), 132.87(C-12a), 120.08(C-13), 137.3(C-13a), 56.93(C10(-OCH₃)), 61.74(C9(-OCH₃)), 101.96(-O-CH₂-O-). Дополнение: спектральные данные мангиферина следующие: ESI-MS m/z 421(M⁻); ¹HNMR(400MHz,DMSO-d₆) δ данные мангиферина следующие: 4.60(H-1'), 6.37(H-5), 6.86(H-4), 7.39(H-8); ³CNMR(400MHz,DMSO-d₆) δ данные мангиферина следующие: 161.68(C-1), 107.54(C-2), 163.73(C-3), 93.27(C-4), 156.15(C-4a), 101.25(C-4b), 102.54(C-5), 153.91(C-6), 143.63(C-7), 108.05(C-8), 111.68(C-8a), 150.7(C-8b), 179.02(C-9), 73.04(C-1'), 70.24(C-2'), 78.9(C-3'), 70.56(C-4'), 81.44(C-5'), 61.41(C-6').

Спектральные данные берберина следующие: ESI-MS m/z 336(M); ¹HNMR(400MHz,DMSO-d₆) δ данные берберина следующие: 3.26(H-5), 4.11(-OCH₃), 4.21(-OCH₃), 4.92(H-6), 6.11(-O-CH₂-O-), 6.96(H-4), 7.66(H-1), 8.0(H-12), 8.11(H-11), 8.7(H-13), 9.76(H-8); ³CNMR(400MHz,DMSO-d₆) δ данные берберина следующие: 106.54(C-1), 121.49(C-1a), 149.92(C-2), 152.17(C-3), 109.40(C-4), 131.90(C-4a), 28.24(C-5), 57.20(C-6), 145.73(C-8), 123.33(C-8a), 146.42(C-9), 152.02(C-10), 128.04(C-11), 124.55(C-12), 135.13(C-12a), 121.86(C-13), 139.65(C-13a), 57.61(C10(-OCH₃)), 62.56(C9(-OCH₃)), 103.68(-O-CH₂-O-).

Анализ вышеуказанных структурных идентификационных данных следующий:

По сравнению с веществом прототипа берберина химические сдвиги атома углерода группы берберина в соли мангиферин-6-О-берберина изменяются значительно в связи с защитным эффектом в ³CNMR данных.

По сравнению с веществом прототипа мангиферина химические сдвиги C₆, C₇, C_{8b} группы мангиферина в соли мангиферин-6-О-берберина изменяются значительно в связи с защитным эффектом, и химический сдвиг C₆ изменяется больше всего значительно среди них; химические сдвиги C₅, C₈, C_{8a} также изменяются в различной

степени в связи с защитным эффектом, а химические сдвиги C_8 и C_{8a} , которые лежат в мета позиции, и пара позиций C_6 , изменяются более значительно.

В соответствии с вышеуказанным анализом спектральных данных, может быть известно, что мангиферин-6-О⁻ скомбинирован с берберин- N^+ , и соль мангиферин-6-О-берберина выведена.

Элементный анализ данных соли мангиферин-6-О-берберина и гидратов следующий:

Образцы	Масса фракций, %					
	C		H		N	
	Теоретич 1 значение	Измерен ное значение	Теоретич 1 значение	Измерен ное значение	Теоретич 1 значение	Измерен ное значение
Соль мангиферин-6-О-берберина	61.82	61.57	4.62	4.70	1.85	1.84
Дигидрат соли мангиферин-6-О-берберина	59.02	58.73	4.92	4.93	1.77	1.72
Тетрагидрат соли мангиферин-6-О-берберина	56.45	56.24	5.19	5.20	1.69	1.67

После многих лет исследований новая соль мангиферин-берберина с единственного места солеобразования была успешно выведена, и эта соль является солью мангиферин-6-О-берберина. Соль мангиферин-6-О-берберина не только решает проблему того, что структура активного фармацевтического ингредиента нового лекарства должна быть ясной, но также активизирует следующие неожиданные технические эффекты по сравнению с солью мангиферин-берберина, раскрытой в WO 2010/145192 A1.

Растворимость соли мангиферин-6-О-берберина в соответствии с настоящим изобретением является много выше, чем растворимость соли мангиферин-берберина, описанной в WO 2010/145192 A1, в соляной кислоте, так что соль мангиферин-6-О-берберина более просто растворяется в желудке и лучше абсорбируется. В растворе соляной кислоты pH 1 растворимость соли мангиферин-6-О-берберина составляет 12 мг/мл, а растворимость соли мангиферин-берберина, раскрытой в WO 2010/145192 A1, равна 4 мг/мл, т.е. растворимость соли мангиферин-6-О-берберина в три раза превышает растворимость соли мангиферин-берберина, раскрытой в WO 2010/145192 A1. Дополнительно, стабильность соли мангиферин-6-О-берберина лучше, чем у соли мангиферин-берберина, раскрытой в WO 2010/145192 A1.

Весовое процентное содержание гигроскопичности соли мангиферин-6-О-берберина в соответствии с настоящим изобретением много меньше, чем у соли мангиферин-берберина, раскрытой в WO 2010/145192 A1. Хорошая стабильность при высокой влажности окружающей среды является преимуществом при хранении лекарства, тем самым, уменьшая водную абсорбцию при приготовлении рецептуры и улучшая качество лекарства. Случайно найдено, что соль мангиферин-6-О-берберина в соответствии с настоящим изобретением проявляет терапевтические эффекты на грудную гиперплазию, внутриматочные полипы, сексуальную дисфункцию, гиперплазию простатита, бесплодие,

утомляемость и экзему. Эти терапевтические эффекты не могут быть прогнозируемыми и известными, исходя из активности соли мангиферин-берберина, раскрытой в WO 2010/145192 A1.

Дополнительно раскрывается способ получения соли мангиферин-6-О-берберина. По сравнению со способом получения соли мангиферин-берберина, раскрытым в WO 2010/145192 A1, способ получения в соответствии с настоящим изобретением решает проблему необходимости сокращения расходов и выбросов загрязнений в окружающую среду, которые возникают в связи с большим количеством органических растворителей, и таким образом, способ получения в соответствии с настоящим изобретением является приемлемым для промышленного производства. Кроме того, достигнуты неожиданные технические эффекты: выведена новая соль мангиферин-берберина с единственного сайта солеобразования, которая является солью мангиферин-6-О-берберина.

Сравнение растворимости двух солей мангиферин-берберина в растворе соляной кислоты pH 1

1. Исследуемые образцы:

Образец А: Дигидрат соли мангиферин-6-О-берберина.

Образец В: Соль мангиферин-берберина, выведенная способом, раскрытым в WO 2010/145192 A1.

1. Инструмент: PHS-3C pH метр (Shanghai Кангуй).

2. Методы и результаты:

Берем чистую воду; добавляем соляную кислоту до доведения pH 1 (25°C±2°C). Берем по 50 мл для разных треугольных флаконов; точный вес 200 мг образца А и образца В, основанием которых является порошок, и помещаем в треугольные флаконы отдельно, трясая и наблюдая процесс растворения.

Образец А растворяется быстро в водном растворе pH 1, и раствор является ясным (прозрачным).

Образец В может раствориться в водном растворе pH 1 в течение 1 мин., но раствор становится вскоре мутным, что указывает на образование некоторого осадка.

Берем по 50 мл для разных треугольных флаконов; точный вес образца А 400 мг и 600 мг, основанием которого является порошок, и помещаем порошки в треугольные флаконы отдельно, трясая и наблюдая процесс растворения.

400 мг образца А растворяется быстро в водном растворе pH 1, и раствор является ясным (прозрачным). Осадок не образовывается в течение 24 часов.

600 мг образца А растворяется быстро в водном растворе pH 1, и раствор является ясным (прозрачным). Небольшой осадок образовывается приблизительно после 30 мин., и раствор становится слегка мутным.

Вышеописанные результаты указывают на то, что растворимость образца А в растворе соляной кислоты pH 1 составляет приблизительно 12 мг/мл; растворимость образца В в растворе соляной кислоты pH 1 составляет приблизительно 4 мг/мл; и стабильность раствора соли мангиферин-6-О-берберина является много лучше соли мангиферин-берберина, раскрытой в WO 2010/145192 A1.

1. Заключение:

Растворимость соли мангиферин-6-О-берберина в растворе соляной кислоты pH 1 в три раза превышает растворимость соли мангиферин-берберина, раскрытой в WO 2010/145192 A1.

Сравнение стабильности двух солей мангиферин-берберина при высокой влажности окружающей среды

1. Исследуемые образцы:

Образец А: Дигидрат соли мангиферин-6-О-берберина.

Образец В: Соль мангиферин-берберина, выведенная способом, раскрытым в WO 2010/145192 A1.

2 Инструмент: электронные весы с десятичной шкалой (Sartorius, Germany).

5 3. Метод исследования:

Размещаем точный вес соответствующего количества образца А в 3 стеклянных стаканах и образца В в 3 стеклянных стаканах отдельно; помещаем образцы в камеру стабильности лекарства при условиях: 25°C/90% RH±5% RH, и храним 10 дней. Вес образцов определяем точно на 5 день и 10 день; записываем результаты взвешивания и рассчитываем процентное весовое содержание абсорбции (поглощения) влаги.

4. Результаты являются следующими:

	Вещество	Процентное содержание на 5 день, рост по весу (%)	Процентное содержание на 10 день, рост по весу (%)
Образец А	Дигидрат соли мангиферин-6-О-берберина	3.2	4.8
Образец В	Соль мангиферин-берберина	5.3	8.7

25 5. Обсуждение:

Процентное содержание поглощения влаги дигидратом соли мангиферин-6-О-берберина составляет много меньше, чем у соли мангиферин-берберина, раскрытой в WO 2010/145192 A1, при высокой влажности окружающей среды.

Активность соли мангиферин-6-О-берберина по АМПК

30 1. Материалы

Дигидрат соли мангиферин-6-О-берберина, выведенной с использованием способов, раскрытых в вышеуказанных примерах, растворяется в DMSO (диметилсульфоксид). Перед использованием, дигидрат соли мангиферин-6-О-берберина разбавляют в культурной среде или в HBS. Предельная концентрация DMSO составляет не более 0.2%.

35 Клеточная линия крыс L6, приобретенная в ATCC (американская коллекция типовых культур), HГ-DMEM, приобретенная в ГВСО™. Фетальная бычья сыворотка (FBS), приобретенная в Nuclone. Анти-АМПК, анти- АСС, антифосфо- АМПК (Thr 172), антифосфо- АСС (ser79) поликлональных антител, приобретенные в Cell
40 Signal Technology.

2. Методы

2.1 Клеточная культура

45 Клетки L6 были выращены в HГ-DMEM, содержащем 10% (v/v) FBS, 100 ед/мл пенициллина и 100 ед/мл стрептомицина во влажной атмосфере 5% CO2 при 37°C. Когда клетки покрывают 60%, среду переводят к HГ-DMEM с 2% FBS, и культурная среда замещается каждые два дня до тех пор, пока клеточное различие достигнет 90%.

2.2 Обработка и коллекция образцов.

Клетки в 6-ти луночных планшетах были истощены в свободном от сыворотки крови

НГ-DMEM и затем образцы с различным градиентом концентрации были добавлены в свободный от сыворотки крови НГ-DMEM; концентрация DMSO составляла 0.2%. Образцы инкубировали 3 часа в клетки. Клетки прополаскивали дважды ледяной 1×PBS (фосфатно-солевой буфер) и лизировали 200 µl 1×SDS нагружаемым буфером (50 mM Tris·HCL, 100 mM DTT, 2% SDS, 0.1% бромифенола голубого, 10% глицерола) 10 мин. Собранный лизисный буфер, обрабатывали ультразвуком 15 сек., кипятили при 100°C 10 мин.

2.3 Вестерн-блоттинг

Образцы были обработаны электрофорезом 10% SDS-полиакриламидными гелями и перемещены к PVDF(поливинилиденфторид) мембране при 100V и 1-2 часа в трансмембранный инструментарий. Протеин в геле был перемещен в нитроцеллюлозную мембрану при состоянии, на половину высушенном, и связь была закончена Ronseau S. Мембрана была закрыта блокирующим раствором (3% нежирным сухим молоком, 0.1% Tween, TBS раствором) на 1 час; первичные антибиотики были добавлены при 1:1000 при 4°C на всю ночь, вымытые TBS 3×15 мин.; вторичные антибиотики были добавлены при 1:1000, инкубированы 1 час при комнатной температуре, вымытые TBS 3×15 мин., расположены на ECL и вымыты 5-10 мин, и отображены X - лучом.

3. Результаты

Соль мангиферин-6-О-берберина (1.25-5 моль/л) улучшает значительно фосфорилирование обоих АМПК и АСС в дозозависимой манере.

Эффекты соли мангиферин-6-О-берберина по улучшению метаболических показателей расстройств

Пациентам в соответствии с критерием диагностирования не алкогольное увеличение печени, скомбинированное по типу 2 сахарного диабета, перорально вводили таблетки 75 мг соли мангиферин-6-О-берберина (на метод получения ссылка может быть сделана в примере б) два раза в день. Шесть м-цев спустя, энзимы (ферменты) печени (ALT, AST), гепатитный стеатозиз (по цветовой ультразвуковой доплерографии), индекс APRI (указывающий гепатитные фиброзы), гликозилированный гемоглобин (HbA1C), сывороточный инсулин (INS), инсулиночувствительный индекс (ISI), кровяной липид (ТГ), кровяное давление (систолическое и диастолическое кровяное давление), мочево

микроальбумин и вес пациентов значительно улучшились.

Результаты показывают, что соль мангиферин-6-О-берберина проявляет эффекты в следующем:

Уменьшение печеночных энзимов, улучшение гепатитных стеатозизов, улучшение гепатитных фиброз и гипокликемического действия, уменьшение инсулина, увеличение инсулиночувствительности и гипокликемического действия, понижение кровяного давления, снижение мочевого микроальбумина и снижение веса.

Детальные результаты следующие:

Индексы до и после введения соли мангиферин-6-О-берберина (n=8, среднее значение ±SD)

	Базовая линия (до введения)	Соль мангиферин-6-О- берберина	
5	ALT (ед/л)	136.50±18.25	51.85±7.22*
	AST (ед/л)	83.32±10.21	39.20±4.22*
10	Цветовая ультразвуковая доплерография печени	Увеличенная (жировая) печень	нормальная
	APRI индекс	0.447±0.05	0.203±0.03*
	HbA _{1c} (%)	7.18±0.36	5.80±0.11*
15	INS (пмоль/л)	197.99±19.26	56.08±18.05*
	ISI	-7.12±0.12	-5.80±0.30*
	ТГ (мм/л)	3.56±0.89	1.41±0.44*
20	Атерогенный index (AI)	4.12±0.79	3.10±0.84*
	Систолическое давление (ммНг)	153.77±9.03	125.86±0.01*
25	Диастолическое давление (ммНг)	94.79±3.70	76.39±0.51*
	Вес (кг)	73.35±3.02	62.34±2.11*
30	Мочевой микроальбумин (1 ⁺ см. как 1)	0.60±0.02	0±0*

p.s.: *p<0.05

Эффекты соли мангиферин-6-О-берберина при лечении человека

35 Таблетки соли мангиферин-6-О-берберина были введены перорально (А коротко, по способу получения, ссылка на который может быть сделана в примере 6). Было найдено, что соль мангиферин-6-О-берберина проявляет терапевтические эффекты при: ревматоидных артритах, гиперплазии gland молочной железы, мочевых полипах, гиперплазии простатита, слабоумии, сексуальной дисфункции, бесплодии, аритмии, 40 сердечной недостаточности и усталости (изнуренности). Гели соли мангиферин-6-О-берберина (В коротко, по способу получения, ссылка на который может быть сделана в примере 10) были применены на затронутые области. Было обнаружено, что соль мангиферин-6-О-берберина проявляет терапевтические эффект при экземе. Детальные результаты следующие:

45 Лечение солью мангиферин-6-О-берберина заболеваний (ср. значение ±SD)

5

10

15

20

25

30

Название болезни	n	Применение и доза	Курс лечения	Индекс	Улучшение индекса	
					До введения	После введения
Ревматоидный артрит	8	A, 75 мг, 2 раза в день	6 м-цев	DAS28 показатель	3.18± 0.29	1.80±0.42*
Грудная гиперплазия	8	A, 37.5 мг, 3 раза в день	3 м-ца	Опухоль (мм ² , цветовая ультразвуковая доплерография)	63.00± 12.55	23.18± 2.89*
Мочевые полипы	8	A, 37.5 мг, 2 раза в день	3 м-ца	полипы (мм ² , цветовая ультразвуковая доплерография)	56.77± 7.81	0±0*
Гиперплазия простатита	8	A, 300 мг, 2 раза в день	6 м-цев	Простата (мм ² , цветовая ультразвуковая доплерография)	14.19± 2.69	10.66± 2.12*
				IPSS интегральная	9.21±0.88	7.38±0.61*
Слабоумие	8	A, 150 мг, 2 раза в день	12 м-цев	MMSE интегральная	18.11± 3.24	23.59± 4.74*
Сексуальная дисфункция	8	A, 150 мг, 2 раза в день	6 м-цев	ИИФ-5 интегральная	10.47± 2.13	18.97± 3.68*

35

40

45

Бесплодие	10 [#]	А, 75 мг, 2 раза в день	6 м- цев	Степень беременности (%)	0	30
Аритмия	8	А, 75 мг, 2 раза в день	3 м- ца	Электрокардио грамМа PR интервал(ms)	248.33± 25.81	204.50± 14.99*
Хроническая сердечная недостаточ ность	8	А, 75 мг, 2 раза в день	3 м- ца	Левая желудочковая выбрасывающая фракция (%)	50.12± 6.99	59.32± 7.16*
Усталость	10	А, 37.5 мг, 1 раз в день	3 м- ца	FAI показатель	120.33± 25.19	100.92± 19.15*
Экзема	8	В, соответствующе е количество, 1 раз в день	7 дней	SCORAD показатель	19.11± 3.76	10.63± 2.08*

p.s.: *p<0.05, #10 пары

Фармацевтическое сравнение между солью мангиферин-6-О-берберина и солью мангиферин-берберина

1. Схемы испытания:

Образец А: Дигидрат соли мангиферин-6-О-берберина.

Образец В: Соль мангиферин-берберина, выведенная способом, раскрытым в WO 2010/145192 A1.

Единственное внутрижелудочное введение образца А или В было осуществлено SD крысам при дозе 100 мг/кг и кровь была взята из яремной вены через 0, 0.083, 0.25, 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 12 и 24 часа.

Приготовление ссылочного раствора мангиферина: Эталонный мангиферин был точно взвешен и положен в 25 мл объемный флакон; был добавлен метанол, чтобы сделать мангиферин растворимым, добавляя постепенно. Остаточный раствор мангиферина выведен для сохранения. Соответствующее количество остаточного раствора мангиферина было аккуратно взято и разбавлено, чтобы приготовить раствор эталонного мангиферина, имеющего концентрацию 2, 5, 10, 50, 100, 200 нг/мл.

Приготовление исходного раствора гидрохлорида берберина: исходный гидрохлорид берберина был точно взвешен и положен в 25 мл объемный флакон; был добавлен метанол, чтобы сделать гидрохлорид берберина растворимым, добавляя постепенно. Остаточный раствор гидрохлорид берберина выведен для сохранения. Соответствующее количество остаточного раствора гидрохлорид берберина было аккуратно взято и разбавлено, чтобы приготовить эталонный раствор, где берберин имеет концентрацию 0.2, 0.5, 2, 10, 20, 50 нг/мл.

Приготовление внутреннего стандартного раствора: Глибенкламид был точно взвешен и положен в 25 мл объемный флакон; был добавлен ацетонитрил, чтобы сделать глибенкламид растворимым, добавляя постепенно. Внутренний стандартный раствор глибенкламида был выведен, имея концентрацию 50 нг/мл.

Технологический режим образца крови: кровь крысы была положена в гепариновую антикоагулянтную центрифужную трубу и центрифугирована 10 мин., при 6000 об/мин,

была взята плазма для сохранения при -20°C.

Обработка чистой плазмы: берут 100 μ l плазмы, добавляют раствор ацетонитрил-уксусной кислоты (9:1) 500 μ l, создают завихрение 5 мин., центрифугирование 10 мин. при 6000 об/мин, берут супернатант, выполняют вакуумную сушку при 50°C, добавляют 100 μ l дополнительной мобильной фазы в остаток, создают завихрение в течение 3 мин., центрифугируют 10 мин., при 6000 об/мин. Образец чистой плазмы получен и 10 μ l супернатанта введено.

Обработка образца плазмы для введения: берут 100 μ l плазмы для введения для каждой временной точки образца крови отдельно, добавляют раствор ацетонитрил-уксусной кислоты (9:1) 500 μ l, создают завихрение 5 мин., центрифугирование 10 мин. при 6000 об/мин, берут супернатант, выполняют вакуумную сушку при 50°C, добавляют 100 μ l дополнительной мобильной фазы в остаток, создают завихрение в течение 3 мин., центрифугируют 10 мин., при 6000 об/мин. Образец плазмы для введения получен и 10 μ l супернатанта введено.

Хроматографические условия: мобильная фаза А: 0.1% муравьиной кислоты, мобильная фаза В: метанол; хроматографическая колонна: Waters Xbridge C18 (50*2.1 мм, 5 мкм); уровень потока: 0.40 мл/мин.

Метод градиентной элюции:

20	Время (мин.)	Мобильная фаза В (%)
	0.50	18
	1.20	98
	2.50	98
25	2.51	18
	4.00	остановка

Условия массовой спектрометрии: режим ионного детектирования: мульти ионное детектирование (MRM); ионная полярность: положительный ион; мангиферин: m/z 422.9/327.1, берберин: m/z 337.3/321.3, внутренний стандарт: m/z 494.2/369.1.

2. Результаты

Фармацевтические параметры рассчитаны некомпартментной моделью в Pharsirht Phoenix 6.3.

AUC соли мангиферин-6-О-берберина и соли мангиферин-берберина (ср. значение \pm SD)

Параметр	Соль мангиферин-6-О-берберина (n=3)		Соль мангиферин-берберина (n=3)	
	Мангиферин	Берберин	Мангиферин	Берберин
40 AUC ₀₋ (нг*h/мл)	1831.11 \pm 510.25	669.72 \pm 312.83	834.21 \pm 305.34	275.04 \pm 114.22

Результаты показывают, что AUC соли мангиферин-6-О-берберина в 2 раза превышает соль мангиферин-берберина путем перорального введения, которое показывает, что абсорбция соли мангиферин-6-О-берберина выше, чем у соли мангиферин-берберина.

Получение дигидрата соли мангиферин-6-О-берберина

670 мл воды было добавлено в реактор и 0.1 mol бикарбоната калия было растворено в воде, чтобы вывести раствор бикарбоната калия, имеющего концентрацию 1.5% (w/v). 0.1 mol мангиферина (42.2 г) было растворено в 21 мл DMSO (отношение мангиферина к DMSO составляло 1:0.5 (w/v)) и затем нагрето для получения раствора мангиферина. Раствор мангиферина был медленно добавлен в раствор бикарбоната калия и затем существенно перемешан при 70°C до завершения реакции. Результирующий раствор был отфильтрован и раствор соли мангиферин-6-О-берберина был выведен. Температура поддерживалась 60°C для сохранения. 0.1 mol гидрохлорида берберина было растворено в 3700 мл воды при 70°C, чтобы вывести раствор гидрохлорида берберина. Температура поддерживалась 80°C для сохранения. Раствор соли мангиферин-6-О-калия был медленно добавлен в раствор гидрохлорида берберина и затем существенно перемешан для завершения реакции. Впоследствии, значительное количество осадка было получено после отстаивания. Результирующий раствор был отфильтрован, чтобы вывести осадок, и осадок был подвергнут вакуумной сушке при 45°C и 65.7 г твердого оранжевого дигидрата соли мангиферин-6-О-берберина было выведено. Продуктивность составила 82.8%, а чистота продукта - 97.6%), как было определено HPLC.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

Мангиферин в соответствии с настоящим изобретением может быть приобретен на рынке (Xi'an Yunglingdongke Pharmaceutical Co., Ltd., и мангиферин может быть получен с содержанием 98% любым предприятием, имеющим соответствующее оборудование). Гидрохлорид берберина и сульфат берберина и подобное в соответствии с настоящим изобретением могут быть приобретены на рынке (Xi'an Xiaosao Plant Technology Co., Ltd.). Реагенты в соответствии с настоящим изобретением такие, как карбонат натрия, бикарбонат натрия, калиевый карбонат, диметилсульфоксид и подобное, могут быть приобретены на рынке.

Получение Пример 1: получение соли мангиферин-6-О-натрия

1700 мл воды было добавлено в реактор и 0.1 mol бикарбоната натрия было растворено в воде для выведения раствора бикарбоната натрия, имеющего концентрацию 0.5% (w/v). 0.1 mol мангиферина (42.2 г) было растворено в 85 мл DMSO (отношение мангиферина к DMSO составляло 1:2 (w/v)) и затем нагрето и растворено для получения раствора мангиферина. Раствор мангиферина был медленно добавлен в раствор бикарбоната натрия и затем существенно перемешан при 85°C до завершения реакции. Результирующий раствор был отфильтрован. Когда температура результирующего раствора упала до комнатной температуры, 2 разовый объем ацетона был добавлен к раствору и существенно перемешан. Впоследствии, значительное количество осадка было получено. Результирующий раствор был отфильтрован для выведения осадка и осадок был должным образом промыт этанолом. Затем осадок был подвергнут вакуумной сушке при 40°C и раскрошен для выведения 21.3 г бледно-желтого порошка соли мангиферин-6-О-натрия. Продуктивность составляла 50.5%, чистота продукта была 98.6%, как было определено HPLC.

Данные соли мангиферин-6-О-натрия следующие: ^1H NMR(400MHz,DMSO- d_6) δ : 4.60 (H-1'), 6.01(H-5), 6.10(H-4), 6.96(H-8); ^{13}C NMR(400MHz,DMSO- d_6)(δ ppm): 162.43(C-1), 106.82(C-2), 161.56(C-3), 93.50(C-4), 157.12(C-4a), 101.06(C-4b), 99.53(C-5), 161.56(C-6), 147.08(C-7), 103.75(C-8), 106.83(C-8a), 154.28(C-8b), 176.63(C-9), 73.67(C-1'), 70.24(C-2'), 79.19(C-3'), 70.24(C-4'), 81.05(C-5'), 60.97(C-6').

Получение Пример 2: получение соли мангиферин-6-О-калия

1700 мл воды было добавлено в реактор и 0.05 mol карбоната калия было растворено в воде для выведения раствора карбоната калия, имеющего концентрацию 0.8% (w/v). 0.1 mol мангиферина (42.2 г) было растворено в 42 мл DMSO (отношение мангиферина к DMSO составляло 1:1 (w/v)) и затем нагрето для получения карбоната калия и затем
5 существенно перемешано при 60°C до завершения реакции. Результирующий раствор был отфильтрован. Когда температура результирующего раствора упала до 40°C, 2 разовый объем ацетона был добавлен и существенно перемешан. Впоследствии, значительное количество осадка было получено. Результирующий раствор был отфильтрован для выведения осадка и осадок был должным образом промыт этанолом.
10 Затем осадок был подвергнут вакуумной сушке при 50°C и раскрошен для выведения 25.3 г бледно-желтого порошка соли мангиферин-6-О-калия. Продуктивность составляла 60.2%, чистота продукта была 98.3%, как было определено HPLC.

Пример 1: Получение соли мангиферин-6-О-берберина

2000 мл воды было добавлено в реактор и 0.1 mol бикарбоната натрия было
15 растворено в воде для выведения раствора бикарбоната натрия, имеющего концентрацию 0.4% (w/v). 0.1 mol мангиферина (42.2 г) было растворено в 127 мл DMSO (отношение мангиферина к DMSO составляло 1:3 (w/v)) и затем нагрето для получения раствора мангиферина. Раствор мангиферина был медленно добавлен в раствор бикарбоната натрия и затем существенно перемешан при 80°C до завершения реакции.
20 Результирующий раствор был отфильтрован для выведения раствора соли мангиферин-6-О-натрия. Температура поддерживалась при 60°C для сохранения. 0.1 mol гидрохлорида берберина было растворено в 2000 мл воды при 60°C для выведения раствора гидрохлорида берберина. Температура поддерживалась при 60°C для сохранения. Раствор соли мангиферин-6-О-натрия был медленно добавлен к раствору
25 гидрохлорида берберина, существенно перемешан до завершения реакции. Впоследствии, значительное количество осадка было получено после отстаивания. Результирующий раствор был отфильтрован для выведения осадка и затем осадок был подвергнут вакуумной сушке при 60°C. Высушенный продукт был добавлен к должному количеству DMSO для растворения и затем раствор DMSO был добавлен к должному количеству
30 ацетона и затем существенно перемешан. Впоследствии, значительное количество осадка было получено после отстаивания. Результирующий раствор был отфильтрован для выведения осадка и осадок был промыт должным образом этанолом. Затем осаждение было подвергнуто вакуумной сушке при 55°C и 52.0 г твердой оранжевой соли мангиферин-6-О-берберина было выведено. Продуктивность составляла 65.6%,
35 чистота продукта была 95.6%, как было определено HPLC.

Пример 2: Получение дигидрата соли мангиферин-6-О-берберина

3500 мл воды было добавлено в реактор и 0.05 mol карбоната натрия было растворено в воде для выведения раствора карбоната натрия, имеющего концентрацию 0.3% (w/v). 0.1 mol мангиферина (42.2 г) было растворено в 169 мл DMSO (отношение
40 мангиферина к DMSO составляло 1:4 (w/v)) для получения раствора мангиферина. Раствор мангиферина был медленно добавлен в раствор карбоната натрия и затем существенно перемешан при 100°C до завершения реакции. Затем раствор соли мангиферин-6-О-натрия был выведен. Температура поддерживалась при 80°C для сохранения. 0.1 mol гидрохлорида берберина было растворено в 3700 мл воды при 90°C
45 для выведения раствора гидрохлорида берберина. Температура поддерживалась при 80°C для сохранения. Раствор гидрохлорида берберина был медленно добавлен к раствору соли мангиферин-6-О-натрия, существенно перемешан до завершения реакции. Впоследствии, значительное количество осадка было получено после отстаивания.

Результирующий раствор был отфильтрован для выведения осадка и осадок был подвергнут вакуумной сушке и 57.0 г твердого оранжевого дигидрата соли мангиферин-6-О-берберина было выведено. Продуктивность составляла 71.8%, чистота продукта была 94.5%, как было определено HPLC.

5 Пример 3: Получение дигидрата соли мангиферин-6-О-берберина

13800 мл воды было добавлено в реактор и 0.06 mol карбоната калия было растворено в воде для выведения раствора карбоната калия, имеющего концентрацию 0.1% (w/v). 0.1 mol мангиферина (42.2 г) было растворено в 210 мл DMSO (отношение мангиферина к DMSO составляло 1:5 (w/v)) для получения раствора мангиферина. Раствор
10 мангиферина был медленно добавлен в раствор карбоната калия и затем существенно перемешан при 50°C до завершения реакции. Затем раствор соли мангиферин-6-О-калия был выведен. Температура поддерживалась при 40°C для сохранения. 0.1 mol сульфата берберина было растворено в 870 мл воды при 50°C, и затем результирующий раствор был отфильтрован для выведения раствора сульфата берберина. Температура
15 поддерживалась при 40°C для сохранения. Раствор сульфата берберина был медленно добавлен к раствору соли мангиферин-6-О-калия, существенно перемешан до завершения реакции. Впоследствии, значительное количество осадка было получено после отстаивания. Результирующий раствор был отфильтрован для выведения осадка и осадок был подвергнут вакуумной сушке при 50°C и 48.2 г твердого оранжевого
20 дигидрата соли мангиферин-6-О-берберина было выведено. Продуктивность составляла 57.6%, чистота продукта была 95.5%, как было определено HPLC.

Пример 4: Получение тетрагидрата соли мангиферин-6-О-берберина

800 мл воды было добавлено в реактор и 0.1 mol бикарбоната натрия было растворено в воде для выведения раствора бикарбоната натрия, имеющего концентрацию 1% (w/v). 0.1 mol мангиферина (42.2 г) было растворено в 8.5 мл DMSO (отношение
25 мангиферина к DMSO составляло 1:0.2 (w/v)), нагрето для получения раствора мангиферина. Раствор мангиферина был медленно добавлен в раствор бикарбоната натрия и затем существенно перемешан при 90°C до завершения реакции. Затем результирующий раствор был отфильтрован и раствор соли мангиферин-6-О-натрия
30 был выведен. Температура поддерживалась при 80°C для сохранения. 0.1 mol гидрохлорида берберина было растворено в 37000 мл воды при 80°C для выведения раствора гидрохлорида берберина. Температура поддерживалась при 70°C для сохранения. Раствор соли мангиферин-6-О-натрия был медленно добавлен к раствору гидрохлорида берберина, существенно перемешан до завершения реакции. Впоследствии,
35 значительное количество осадка было получено. Результирующий раствор был отфильтрован для выведения осадка и осадок был промыт должным образом водой и высушен, и 56.2 г высушенного продукта было выделено. Продуктивность составляла 70.8%. Высушенный продукт был рекристаллизован в метаноле и 35.9 г оранжевого тетрагидрата соли мангиферин-6-О-берберина было выведено. Продуктивность
40 составляла 44.3% и чистота продукта была 97.5%, как было определено HPLC.

Пример 5: Получение дигидрата соли мангиферин-6-О-берберина

380 мл воды было добавлено в реактор и 0.04 mol карбоната натрия и 0.04 mol бикарбоната натрия было растворено в воде для выведения щелочного водного раствора соли натрия, имеющего концентрацию 2% (w/v). 0.1 mol мангиферина (42.2 г) было
45 растворено в 50 мл DMSO (отношение мангиферина к DMSO составляло 1:1.2 (w/v)) и нагрето для получения раствора мангиферина. Раствор мангиферина был медленно добавлен в щелочной водный раствор соли натрия и затем существенно перемешан при 95°C до завершения реакции. Затем результирующий раствор был отфильтрован

и раствор соли мангиферин-6-О-натрия был выведен. Температура поддерживалась при 90°C для сохранения. 0.1 mol гидрохлорида берберина было растворено в 3700 мл воды при 100°C для выведения раствора гидрохлорида берберина. Температура поддерживалась при 90°C для сохранения. Раствор гидрохлорида берберина был
5 медленно добавлен к раствору соли мангиферин-6-О-натрия, существенно перемешан до завершения реакции, охлажден и отстоян. Впоследствии, значительное количество осадка было получено. Результирующий раствор был отфильтрован для выведения осадка и осадок был подвергнут вакуумной сушке при 55°C, и в заключении 64.9 г оранжевого дигидрата соли мангиферин-6-О-берберина было выведено. Продуктивность
10 составляла 81.8% и чистота продукта была 96.5%, как было определено HPLC.

Пример 6: Получение таблеток соли мангиферин-6-О-берберина

Дигидрат соли мангиферин-6-О-берберина, выведенный с использованием способа, раскрытого в вышеуказанных примерах, был размолот и пропущен через 160-ячеистое сито. 37.5 г соли мангиферин-6-О-берберина было взвешено и затем 50 г
15 микрокристаллической целлюлозы и 45 г прежелатизированного крахмала было добавлено в качестве разбавляющих агентов, и смесь затем была перемешана равномерно. Этаноловый раствор 10% поливинил пирролидона К30 был использован как связующий материал для получения мягкого материала; и смесь была гранулирована с использованием 24-ячеистого сита, и затем состав был обработан путем раздробления
20 и сушки. 0.5% октадекановой кислоты и 2% микропорошкового кремнеземного геля было добавлено в качестве смазочных веществ; и полученное было равномерно перемешано и таблетизировано. В заключении, таблетки были покрыты пленкой, 1000 покрытых пленкой таблеток было приготовлено. Каждая таблетка содержала 37.5 г соли мангиферин-6-О-берберина.

Пример 7: Получение гранул соли мангиферин-6-О-берберина

Соль мангиферин-6-О-берберина, выведенная с использованием способа, раскрытого в вышеуказанных примерах, была растерта и пропущена через 160-ячеистое сито. 103 г соли мангиферин-6-О-берберина было взвешено, 150 г прежелатизированного крахмала было добавлено в качестве разбавляющего агента, и 100 г ксилитозы было добавлено в
30 качестве ароматизированного агента. Смесь была равномерно перемешана. Раствор 1% карбоксиметилцеллюлозы натрия был использован в качестве связующего для приготовления мягкого материала. Смесь была гранулирована с использованием 24-ячеистого сита, и затем состав был обработан путем раздробления и сушки. Гранулы были выведены после упаковки. Содержание соли мангиферин-6-О-берберина
35 составляло 42 мг/г.

Пример 8: Получение капсул соли мангиферин-6-О-берберина

Дигидрат соли мангиферин-6-О-берберина, выведенный с использованием способа, раскрытого в вышеуказанных примерах, был размолот и пропущен через 160-ячеистое сито. 75 г порошка было взвешено. 20 г микрокристаллической целлюлозы и 25 г
40 крахмала было добавлено в качестве разбавляющих агентов, и смесь затем была равномерно перемешана. Этаноловый раствор 10% поливинил пирролидона К30 был использован как связующее для получения мягкого материала. Смесь была гранулирована с использованием 24-ячеистого сита, и затем состав был обработан путем раздробления и сушки. В заключении 1000 капсул было выведено после упаковки.
45 Каждая капсула содержала 75 г соли мангиферин-6-О-берберина.

Пример 9: Получение геля соли мангиферин-6-О-берберина

15 г гидроксипропил метилцеллюлозы и 10 г натриевой щелочи были взвешены и затем было добавлено соответствующее количество воды. Результирующий раствор

был существенно перемешан для растворения и субстрат был выведен. 5 г тетрагидрата соли мангиферин-6-О-берберина было добавлено в 100 мл диметилсульфоксида для растворения, и затем смешано с субстратом. 1000 мл равномерно распределенной жидкости было выведено, а именно, геля соли мангиферин-6-О-берберина.

5 Пример 10: Получение лиофилизированного порошка соли мангиферин-6-О-берберина

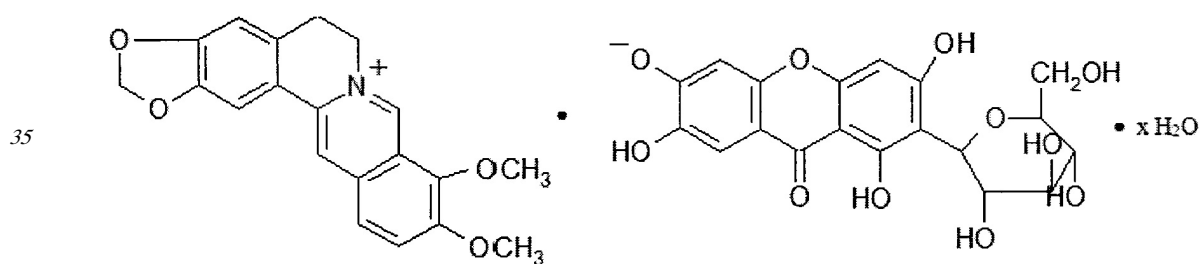
40 г маннитола было взвешено в приемлемом реакторе и 200 мл воды для инъекций было добавлено. 0.2 г (0.1% w/v) активированного угля для инъекций было добавлено, нагрето до 80°C и смешано в течение 30 мин, затем обработано в 0.22-мкм микропористом фильтре для фильтрации. В заключении, фильтрат был выведен для сохранения. 10 г дигидрата соли мангиферин-6-О-берберина было взвешено и 100 мл третбутилового спирта было добавлено и затем смешано, чтобы получить соль мангиферин-6-О-берберина для растворения. Раствор соли мангиферин-6-О-берберина был смешан с раствором маннитола и вода для инъекций была дополнительно добавлена 15 до 1000 мл, после чего полученный состав был обработан в 0.22-мкм микропористом фильтре для фильтрации и разлит по бутылкам. Каждая бутылка содержала 10 мг соли мангиферин-6-О-берберина. Бутылки были затем заморожены и высушены, после чего запрессованы под вакуумом и закрыты крышкой. В заключении, продукты были выделены путем этикетирования и упаковки. Настоящее изобретение, дополнительно 20 описанное ссылочными примерами, на практике не ограничивается только такими примерами.

ПРОМЫШЛЕННАЯ ПРИМЕНИМОСТЬ

Способ получения в соответствии с настоящим изобретением решает проблему снижения стоимости и загрязнения окружающей среды, которые были привнесены из-за использования большого количества органических составляющих, и таким образом, способ получения в соответствии с настоящим изобретением приемлем в промышленном производстве.

(57) Формула изобретения

30 1. Соль мангиферин-6-О-берберина, где соль мангиферин-6-О-берберина имеет структуру, которая определена следующей формулой:



(1)

где $0 \leq x \leq 4$.

2. Соль мангиферин-6-О-берберина по п. 1, где $x=2$.

3. Способ получения соли мангиферин-6-О-берберина, которая определена по любому из пп. 1 и 2, включающий в себя:

45 (1) добавление щелочной соли натрия или соли калия в воду для выведения щелочного водного раствора соли натрия или щелочного водного раствора соли калия, при этом раствор имеет концентрацию 0.1%-2% (w/v);

(2) растворение мангиферина в диметилсульфоксиде для выделения раствора

мангиферина;

(3) медленное добавление раствора мангиферина в щелочной водный раствор соли натрия или в щелочной водный раствор соли калия, полное смешение растворов до того, что растворы полностью пройдут реакцию при температуре 50°C-100°C для выведения раствора соли мангиферин-6-О-натрия или раствора соли мангиферин-6-О-калия;

(4) добавление гидрохлорида берберина в воду при температуре 50°C-100°C для выведения раствора гидрохлорида берберина;

(5) полное смешение раствора гидрохлорида берберина с раствором соли мангиферин-6-О-натрия или раствором соли мангиферин-6-О-калия до осуществления полной реакции, выведение осадка, фильтрация осадка для выведения твердого вещества; и

(6) сушка твердого вещества для выведения соли мангиферин-6-О-берберина.

4. Способ получения по п. 3, где отношение мангиферина к диметилсульфоксиду составляет 1:0.2-5 (w/v).

5. Способ получения по п. 3, где молярное отношение мангиферина к щелочной соли натрия или щелочной соли калия составляет 1:0.5-1.

6. Способ получения по п. 3, где молярное отношение соли мангиферин-6-О-натрия или соли мангиферин-6-О-калия к гидрохлориду берберина составляет 1:1.

7. Способ получения по п. 3, где щелочная соль натрия или щелочная соль калия являются одними или смесью более чем двух выбранных из группы, состоящей из карбоната натрия, бикарбоната натрия, карбоната калия, бикарбоната калия; где гидрохлорид берберина имеет способность к замещению сульфатом берберина или другими медицински приемлемыми солями берберина.

8. Лекарственное средство для лечения метаболических заболеваний, кардиоваскулярных заболеваний, неврологических и воспалительных заболеваний, рака и заболеваний мышечных систем, где лекарственное средство содержит соль мангиферин-6-О-берберина, которая определена по любому из пп. 1 и 2, в качестве активного начала в терапевтически эффективном количестве, и фармацевтически приемлемый вспомогательный материал.

9. Лекарственное средство по п. 8, которое выполнено в любой из форм: таблетки, капсулы, гранулы, перорального раствора, пероральной суспензии, сиропа, пилюли, препарата для внешнего применения и инъекции.

10. Применение соли мангиферин-6-О-берберина, которая определена по любому из пп. 1 и 2, где соль мангиферин-6-О-берберина использована в качестве АМПК активатора.

11. Применение по п. 10, где АМПК активатор использован для предотвращения или лечения любого одного или более из следующих болезней: диабет, аритмия, сердечная недостаточность, простатит, ревматоидный артрит, ожирение, гиперлипидемия, инсулиновая сопротивляемость, гиперинсулиномия, метаболические синдромы, гипертензия, атеросклероз, простое увеличение печени, не связанная с алкоголем болезнь увеличения печени, не связанный с алкоголем стеатогепатит, фиброз печени.

12. Применение соли мангиферин-6-О-берберина, которая определена по любому из пп. 1 и 2, в получении лекарственного средства для лечения грудной гиперплазии, мочевых полипов, гиперплазии простатита, сексуальной дисфункции, бесплодии, экземы и усталости.