

(12) FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO

(22) Data de pedido: 2003.10.08	(73) Titular(es): SOLVAY PHARMACEUTICALS GMBH HANS-BÖCKLER-ALLEE 20 30173 HANNOVER DE
(30) Prioridade(s): 2002.10.11 EP 02022763	
(43) Data de publicação do pedido: 2005.07.20	
(45) Data e BPI da concessão: 2009.04.08 089/2009	(72) Inventor(es): IVAN BAN DE KLAUS-GUENTHER GERLING DE HANS-JOERG MUELLER DE STEFAN WACHSMANN DE
	(74) Mandatário: PEDRO DA SILVA ALVES MOREIRA RUA DO PATROCÍNIO, N.º 94 1399-019 LISBOA PT

(54) Epígrafe: **PROCESSO PARA OBTENÇÃO DE UMA MISTURA NATURAL DE ESTROGÉNIOS EQUINOS CONJUGADOS, EMPOBRECIDA EM COMPOSTOS LIPOFÍLICOS NÃO CONJUGADOS**

(57) Resumo:

DESCRIÇÃO

"PROCESSO PARA OBTENÇÃO DE UMA MISTURA NATURAL DE ESTROGÉNIOS EQUINOS CONJUGADOS, EMPOBRECIDA EM COMPOSTOS LIPOFÍLICOS NÃO CONJUGADOS"

A presente invenção refere-se à obtenção de uma mistura natural de estrogénios equinos conjugados, a qual está empobrecida em compostos lipofílicos não conjugados do grupo compreendendo flavonóides não conjugados, isoflavonóides não conjugados, norisoprenóides não conjugados, esteróides não conjugados, em especial esteróides da série androstano e esteróides da série pregnano, e compostos não conjugados comparáveis.

Os estrogénios são utilizados, na medicina, na terapêutica hormonal de substituição. As misturas estrogénicas são utilizadas, em especial, para o tratamento e profilaxia das queixas que surgem nas mulheres no climatério, após a menopausa natural ou artificial. Com isto, as misturas naturais de estrogénios conjugados, como estão presentes na urina de éguas gestantes, designadas adiante como misturas naturais de estrogénios equinos conjugados, demonstraram-se como especialmente eficazes e bem tolerados.

O teor de matéria sólida diluído na urina de éguas gestantes (abreviado doravante como "PMU") pode oscilar naturalmente dentro de largas gamas e estar, em geral, numa gama de 40 até 90 g de substância seca por cada litro. A par da ureia

e de outros conteúdos de urina usuais estão contidos, no teor de matéria sólida da PMU, componentes fenólicos em quantidades de cerca de 2 até 5% em peso, relativamente à substância seca. Entre estes componentes fenólicos encontram-se cresóis e a di-hidro-3,4-bis[(3-hidroxifenil)metil]-2(3H)-furanona, conhecida como HPMF. Estes podem estar presentes na forma livre ou conjugada. Na PMU está contida uma mistura natural de estrogénios, a qual está presente predominantemente na forma conjugada, p. ex., como sal sódico de hemi-éster de ácido sulfúrico (doravante abreviado com "sal de sulfato"). O teor em estrogénios conjugados (calculados como sal de sulfato de estrogéneo) pode perfazer entre 0,1 e 1 % em peso, relativamente à substância seca. Adicionalmente, podem estar presentes, no teor de matéria sólida da PMU, outros compostos lipofílicos, cujas quantidades podem oscilar em largas gamas e não são previsíveis. Estes compostos lipofílicos provêm predominantemente das plantas consumidas como alimento, pelas éguas gestantes, e compreendem sobretudo diferentes derivados de flavonóides, isoflavonóides, norisoprenóides e compostos comparáveis, tal como, por exemplo, formononetina, genisteína, daidzeína, biochanina A, equol e coumestrol. Estes compostos lipofílicos de proveniência originalmente vegetal podem estar presentes, na urina, na forma conjugada ou na forma livre (não conjugada). Aos componentes lipofílicos que existem ainda no teor de matéria sólida da PMU pertencem também os derivados esteróides não conjugados, sejam aqui indicados, em especial, os esteróides da série androstano e esteróides da série pregnano, mas também derivados estrogénicos não conjugados.

Os extractos contendo misturas naturais de estrogénios conjugados são obtidos, usualmente, através de um processo de extracção de fase sólida ou através de um processo que se baseia

em diferentes passos de extracção líquido-líquido, com solventes orgânicos não miscíveis, ou só pouco miscíveis, com água. Em geral vigora que, para poder ser utilizada como componente da substância activa para fármacos, a mistura natural de estrogénios conjugados obtida, tem de cumprir determinadas especificações farmacêuticas, por exemplo, tem de corresponder às especificações estabelecidas na USP (Farmacopeia dos Estados Unidos) ou Farmacopeia Europeia. Assim, no que diz respeito ao teor em estrogénios conjugados, relativamente à substância seca, têm de ser respeitados determinados valores limite.

As patentes US N° 2551205 e N° 2429398 descrevem um processo para a preparação de um preparado estrogénico solúvel em água, a partir de PMU, no qual é obtido, em primeiro lugar através de adsorção em carvão activo ou outros materiais adsorventes adequados, por eluição com um solvente orgânico miscível em água, tal como p. ex., piridina, e subsequente remoção do solvente, um concentrado aquoso, o qual contém a maior parte dos componentes estrogénicos solúveis em água da PMU utilizada originalmente. Enquanto que na Patente US N° 2429398 o concentrado é novamente purificado por extracção com benzeno e/ou éter, na patente US N° 2551205 é descrito que, o concentrado é acidificado a um valor de pH entre 2 e 6, de um modo preferido, entre 4 e 5, e é depois extraído rapidamente com um solvente orgânico muito pouco miscível em água do grupo dos hidrocarbonetos alifáticos, aromáticos ou alicíclicos (p. ex., hexano, benzeno, tolueno, ciclo-hexano) ou dos hidrocarbonetos clorados (p. ex., clorofórmio, dicloreto de etileno, tricloroetileno, tetracloreto de carbono, clorobenzeno), de modo a separar, por transição para a fase orgânica, substâncias indesejadas, tais como gorduras, óleos, componentes fenólicos livres e os esteróides não conjugados. Por fim, a fase aquosa é

estabilizada por neutralização. A patente US N° 2551205 recomenda nova purificação do extracto obtido, através de passos de extracção e precipitações posteriores. Ao todo, é obtido, após a execução do processo descrito na patente US N° 2551205, um rendimento de apenas cerca de 80% dos componentes estrogénicos do concentrado utilizado.

Na patente US N° 2565115, é descrita a extracção dos estrogénios conjugados a partir de PMU, com acetona. Não é dada qualquer informação sobre a pureza da fracção estrogénica obtida.

A patente US N° 2696265 descreve um processo, no qual os estrogénios são em primeiro lugar extraídos com um álcool alifático ou cetona, tais como hexanol, ciclo-hexanol ou ciclo-hexanona. Os estrogénios passam para a fase orgânica e são subsequentemente novamente purificados, entre outros, uma fase aquosa contendo os estrogénios é ajustada a um valor de pH de 4, com ácido clorídrico, e é extraída com dicloreto de etileno.

Na patente US N° 2834712 é publicado um processo para a preparação de misturas estrogénicas de pureza significativa e de baixa toxicidade que assenta sobre uma multiplicidade de passos de extracção individuais, com diferentes solventes, e no ajuste de diferentes valores de pH. Neste caso são utilizados grandes volumes de solventes, tais como hexano e benzeno. Assim, p. ex., um concentrado já purificado é, num passo, dissolvido em água, ajustado a um valor de pH de cerca de 5,0 com ácido clorídrico e extraído com benzeno e subsequentemente com éter, para separar os componentes fenólicos.

O pedido de patente internacional WO 01/27134 descreve um processo relativamente fácil, para extrair estrogénios conjugados a partir de PMU: Após adição de um sal, tal como p. ex., cloreto de sódio, extrai-se a PMU com, pelo menos, a mesma fracção em volume de um solvente orgânico, tal como p. ex., acetato de etilo, os estrogénios conjugados passam, com isto, para a fase orgânica. A fase orgânica é separada e seca para se obter o extracto. No documento WO 01/27134 não são dadas nenhuma informação sobre a pureza do extracto de estrogénios conjugados obtido.

Nos processos de extracção líquido-líquido descritos anteriormente e conhecidos do estado da técnica surgem, no entanto, uma multiplicidade de problemas, tal como a forte formação de espuma, formação de sedimento, formação de emulsão e uma má separação de fases. São necessários, em geral, vários passos de extracção, o que conduz a perdas e a ganhos apenas parciais do teor em estrogénio. Para além disso, estes processos de extracção exigem grandes volumes de solventes, em parte nocivos para a saúde. Além disso, nas patentes publicadas, acima apresentadas, não são dadas informações nem sobre o teor, nos produtos obtidos, em componentes lipofílicos não conjugados, tal como por exemplo, derivados de flavonóides, isoflavonóides, norisoprenóides não conjugados e compostos não conjugados comparáveis, ou também esteróides não conjugados, em especial, os esteróides da série androstano e esteróides da série pregnano, nem sobre uma separação destes componentes. Estes processos conhecidos do estado da técnica não fornecem quaisquer resultados satisfatórios no que diz respeito ao rendimento ou no que diz respeito à pureza do extracto obtido, medida no teor total de hormona obtida em relação à substância seca, ou assentam numa multiplicidade de passos processuais diversos e na

utilização de grandes volumes de solventes orgânicos e até em parte indesejáveis do ponto de vista toxicológico.

Além disso, são conhecidos do estado da técnica diferentes processos de extracção de fase sólida, para obter uma mistura natural de estrogénios equinos conjugados consideravelmente empobrecida em conteúdos da urina fenólicos. Assim, o pedido de patente internacional WO 98/08526 descreve um processo, com o qual pode ser obtida, numa extracção em fase sólida numa resina adsorvente polimérica semipolar, em especial, numa resina adsorvente não iónica semipolar, uma mistura empobrecida em conteúdos de urina fenólicos, consideravelmente livre de cresol e de HPMF, contendo o teor em estrogénio natural da PMU praticamente completo. No pedido de patente internacional WO 98/08525 é descrito um processo semelhante, no qual é utilizado sílica gel, como material adsorvente, na extracção em fase sólida. O pedido de patente chinês CN 1308083 descreve também um processo comparável, no qual são utilizadas resinas adsorventes polares contendo grupos ciano. Os extractos obtidos são adequados como materiais de partida para a preparação de fármacos, os quais contêm, como componentes de substância activa, a mistura natural de estrogénios equinos conjugados, a partir de PMU.

As exigências de especificação farmacêuticas colocadas, por exemplo, os valores limite a serem respeitados no que diz respeito ao teor em estrogénios conjugados, relativamente à substância seca, são normalmente satisfeitas pelas misturas de estrogénios conjugados obtidos a partir de PMU, de acordo com o processo do documento WO 98/08526 ou com o processo do documento WO 98/08525. Verificou-se, no entanto, que a par do teor desejado em estrogénios conjugados, também podem estar contidos,

na substância seca obtida, compostos lipofílicos não conjugados. Entre os compostos lipofílicos não conjugados contam-se, por exemplo, diferentes derivados de flavonóides, isoflavonóides, norisoprenóides não conjugados e compostos não conjugados comparáveis, tal como, por exemplo, formononetina, genisteína, daidzeína, biochanina A, equol e coumestrol, mas também esteróides não conjugados, em especial esteróides da série androstano e esteróides da série pregnano, e estrogénios não conjugados, em que esta enumeração não deve ser considerada como completa. A presença dos compostos lipofílicos não conjugados na mistura de estrogénios conjugados obtida a partir de PMU não consegue ser padronizada, variando tanto o teor como também a composição dos compostos lipofílicos livres e conjugados, por exemplo, em dependência do alimento consumido pelas éguas gestantes.

Com efeito, a composição em estrogénios equinos conjugados, da mistura natural, não se modifica pela presença adicional de compostos lipofílicos não conjugados, mas o teor dos estrogénios equinos conjugados, relativamente à substância seca, pode estar diminuído. Através de uma separação dos componentes lipofílicos não conjugados dirigida poderia ser atingida uma concentração mais elevada das substâncias activas, isto é, dos estrogénios equinos conjugados, no extracto obtido. Também por razões de segurança do medicamento pode ser conveniente separar os compostos lipofílicos não conjugados, de modo a garantir uma composição uniforme das cargas de extracto individuais, uma vez que assim, são eliminados os componentes lipofílicos não conjugados, cujo teor e composição na PMU pode variar em dependência do tipo de alimento, variável sazonalmente, consumido pelas éguas gestantes e, deste modo, os extractos obtidos apresentariam todos, um teor comparável em estrogénios

equinos conjugados, relativamente à substância seca. Além disso, uma separação dos compostos lipofílicos não conjugados pode ser vantajosa, para obter um espectro de acção fisiológica uniforme. Por exemplo, pode ser conveniente separar, da mistura natural de estrogénios equinos conjugados, compostos lipofílicos não conjugados, eventualmente presentes, que possivelmente podem apresentar eles próprios uma acção fisiológica indesejada.

É, por isto, objectivo da presente invenção desenvolver um processo tecnicamente e economicamente optimizado, para a obtenção de uma mistura natural de estrogénios equinos conjugados, em que a mistura está consideravelmente empobrecida em compostos lipofílicos não conjugados, em especial, em derivados de flavonóides, isoflavonóides e norisoprenóides não conjugados. Em especial, é objectivo da presente invenção, desenvolver um processo tal, no qual sejam utilizadas apenas quantidades reduzidas de solventes não nocivos para a saúde. Além disso, deve ser desenvolvido um processo que assenta apenas em poucos passos processuais e fornece, com isto, um extracto de estrogénios equinos conjugados, o qual apresenta um teor comparavelmente elevado, relativamente à substância seca, em estrogénios conjugados. Além disso, com o processo da presente invenção, deve ser possível tratar, de modo simples, uma mistura de estrogénios conjugados da urina de éguas gestantes, já empobrecida em conteúdos de urina fenólicos, a qual pode conter quantidades variáveis e eventualmente elevadas de compostos lipofílicos não conjugados, de modo que a mistura natural de estrogénios equinos conjugados, obtida com a presente invenção, apresente bons teores em substância activa e satisfaça a especificações farmacêuticas exigidas, devendo respeitar, em especial, os valores limite exigidos no que diz respeito ao teor em estrogénios conjugados, relativamente à substância seca.

Foi então encontrado um processo com o qual, de forma surpreendentemente fácil, pode ser obtida uma mistura de estrogénios equinos conjugados, também a partir de uma PMU apresentando quantidades variáveis e eventualmente elevadas de compostos lipofílicos não conjugados, em que a mistura de estrogénios equinos conjugados obtida está consideravelmente empobrecida em compostos lipofílicos não conjugados, em especial em derivados de flavonóides, isoflavonóides e norisoprenóides não conjugados. Em especial, o processo de acordo com a invenção, pode ter aplicação sobre uma mistura de estrogénios conjugados da urina de éguas gestantes, já empobrecida em conteúdos de urina fenólicos, de modo que é obtida com o processo uma mistura de estrogénios equinos conjugados, a qual apresenta uma elevada qualidade de produto e satisfaz de forma segura as exigências da especificação farmacêutica, nomeadamente também em relação aos valores limite a serem respeitados, no que diz respeito ao teor em estrogénios conjugados, relativamente à substância seca.

O processo, de acordo com a invenção, para a obtenção de uma mistura natural de estrogénios equinos conjugados é caracterizado por a mistura obtida ser empobrecida em compostos lipofílicos não conjugados, do grupo compreendendo flavonóides não conjugados, isoflavonóides não conjugados, norisoprenóides não conjugados, esteróides não conjugados, em especial esteróides da série androstano e esteróides da série pregnano e compostos não conjugados comparáveis, e por o processo se distinguir por se

- a) submeter uma fase de partida aquosa, seleccionada do grupo compreendendo

(i) uma solução aquosa de uma mistura natural de estrogénios conjugados da urina de éguas gestantes, já empobrecida em conteúdos de urina fenólicos,

(ii) um concentrado aquoso de uma mistura natural de estrogénios conjugados da urina de éguas gestantes, já empobrecida em conteúdos de urina fenólicos,

(iii) um concentrado de um líquido de urina obtido por concentração, e

(iv) um concentrado de urina libertado de substâncias sólidas e viscosas, o qual foi purificado através de processos de separação seleccionados do grupo compreendendo a decantação, separação, filtração e combinação dos processos indicados anteriormente ou um retentado de urina recentemente obtido por filtração,

a uma extracção líquido-líquido com uma quantidade suficiente de um agente de extracção e separar em seguida a fase aquosa, em que o agente de extracção representa um solvente orgânico adequado para a extracção de compostos lipofílicos não conjugados, do grupo acima indicado, não miscível, ou muito pouco miscível em água, e é seleccionado do grupo constituído por álcoois C_4-C_{10} lineares ramificados ou cíclicos, ácidos esterificados C_2-C_{10} , aldeídos C_3-C_{10} , cetonas C_4-C_{10} , éteres C_2-C_{10} , nitrilos C_3-C_6 e

alcanos halogenados C_1-C_3 e misturas dos solventes indicados anteriormente, e

- b) repetir, eventualmente, com a fase aquosa obtida, o passo processual (a), e
- c) obter uma fase aquosa contendo a mistura natural de estrogénios conjugados e, eventualmente, concentrá-la.

Para o processo, de acordo com a invenção, podem ser utilizadas, como fase de partida aquosa, uma solução aquosa (i) de uma mistura natural de estrogénios conjugados da urina de éguas gestantes, já empobrecida em conteúdos de urina fenólicos, ou um concentrado aquoso (ii) de uma mistura natural de estrogénios conjugados da urina de éguas gestantes, já empobrecida em conteúdos de urina fenólicos. Esta solução aquosa ou este concentrado aquoso podem ser obtidos através de um processo como foi já descrito, por exemplo, nos pedidos de patente internacionais WO 98/08526 e WO 98/08525 ou no pedido de patente chinês CN 1308083 e que é, por conseguinte, familiar ao especialista, a partir destes pedidos de patente publicados. O conteúdo destes documentos WO 98/08526, WO 98/08525 e CN 1308083 é também tornado, para efeitos de revelação, objectivo do presente pedido. Uma solução aquosa ou um concentrado aquoso de uma mistura natural de estrogénios conjugados, da urina de éguas gestantes, já empobrecida em conteúdos de urina fenólicos, pode também ser o produto de um processo de extracção líquido-líquido, como este é descrito, por exemplo, no pedido de patente internacional WO 01/27134. As soluções ou concentrados aquosos obtidos de acordo com os processos descritos nos pedidos de patente anteriores podem ser ainda mais concentrados, de modo

em si conhecido, antes da sua utilização no processo de acordo com a invenção, tal como, por exemplo, por destilação, para se obter um concentrado consideravelmente livre de solvente orgânico.

Além disso, podem ser utilizadas, como fase de partida aquosa para o processo, de acordo com a invenção, um concentrado (iii) obtido da PMU, por concentração ou um concentrado (iv) obtido da PMU, o qual foi já previamente purificado por filtração ou por processos comparáveis. A urina reunida (PMU) é em primeiro lugar libertada, de modo em si conhecido, de matérias sólidas e viscosas. Convenientemente, deixa-se depositar as matérias sólidas e viscosas e separa-se estas depois de acordo com métodos de separação em si conhecidos, por exemplo por decantação, separação e/ou filtração. Assim, a PMU pode ser conduzida, por exemplo, através de uma instalação de separação em si conhecida, p. ex. um separador, uma instalação de filtração ou um sedimentador. Como instalação de separação pode servir, p. ex. uma cama de areia, ou podem ser utilizados separadores comerciais usuais, p. ex., separadores de bocal ou separadores de câmara. Se desejado pode também ser utilizada uma instalação de microfiltração ou uma instalação de ultrafiltração, em que, com a utilização da mesma, pode ser alcançada, simultaneamente, uma libertação considerável de germes e vírus da PMU filtrada.

Se desejado, podem ser adicionados à urina ou ao concentrado de urina, agentes de conservação, germicidas, bactericida e/ou anti-helmínticos.

Como concentrado (iv) de urina previamente purificado pode ser também utilizado um retentato de PMU reconcentrado, o qual

pode ser obtido a partir da PMU através de uma filtração por membrana, em si conhecida. O teor em matéria sólida do retentato e a sua composição podem variar, respectivamente, de acordo com a PMU utilizada e a membrana utilizada na filtração por membrana, por exemplo, a sua largura de poros, assim como as condições da filtração. Por exemplo, na utilização de uma membrana de nanofiltração pode ser alcançada uma concentração do teor em estrogénio, no retentato de PMU, quase isenta de perdas, com uma eliminação simultânea de até 50% em peso dos conteúdos de PMU de baixo peso molecular. Para o processo, de acordo com a invenção, podem ser utilizados retentatos de PMU, os quais foram reconcentrados até uma relação de cerca de 1:10, por exemplo uma relação de cerca de 1:7, e cujo volume pode ser assim reduzido até cerca de 1/10, por exemplo, cerca de 1/7 do volume de PMU original.

Quando o concentrado utilizado, como fase de partida aquosa, de um concentrado reduzido da PMU ou um concentrado de PMU já previamente purificado, por exemplo por filtração por membrana, então a mistura de estrogénios equinos conjugados obtida, a qual foi empobrecida, em compostos lipofílicos não conjugados, através do processo de acordo com a invenção, pode já apresentar uma pureza suficiente, mas pode conter ainda, possivelmente, quantidades significativas de conteúdos da urina fenólicos, que têm de ser separados através de outros passos processuais. Assim, com a fase aquosa obtida, pode, por exemplo, ser realizado um processo, como foi descrito nos pedidos de patente internacionais WO 98/08526 e WO 98/08525 ou no pedido de patente chinês CN 1308083 e que é, por conseguinte, familiar ao especialista a partir destes pedidos de patente publicados, para obter um produto, o qual satisfaz as especificações

farmacêuticas exigidas para estrogénios conjugado, em relação ao teor em conteúdos de urina fenólicos.

No contexto da presente invenção, a utilização de uma solução aquosa de uma mistura natural de estrogénios conjugados da urina de éguas gestantes, já empobrecida em conteúdos de urina fenólicos, ou de um concentrado aquoso de uma mistura natural de estrogénios conjugados da urina de éguas gestantes, já empobrecida em conteúdos de urina fenólicos deve ser considerada como especialmente preferida.

De acordo com a invenção, no passo processual (a) é realizado, com a fase de partida aquosa referida mais detalhadamente em cima, uma extracção líquido-líquido, com uma quantidade suficiente de um agente de extracção, o qual representa um solvente orgânico não miscível, ou muito pouco miscível, com água e adequado para a extracção de compostos lipofílicos não conjugados, em especial, de flavonóides não conjugados, isoflavonóides não conjugados, norisoprenóides não conjugados e esteróides não conjugados. Além disso, o solvente orgânico não deve ser miscível, ou só muito pouco miscível, com a fase de partida aquosa, em que muito pouco miscível significa que, na fase aquosa estão presentes, no máximo, 6% em volume do solvente orgânico dissolvido. Para este passo de extracção líquido-líquido pode ser utilizado, em princípio, qualquer solvente orgânico não miscível em água, desde que este extraia, da fase aquosa, os compostos lipofílicos não conjugados. Para a extracção de compostos lipofílicos não conjugados, em especial de flavonóides não conjugados, isoflavonóides não conjugados, norisoprenóides não conjugados e esteróides não conjugados são adequados, por exemplo, os seguintes solventes orgânicos com 1 até 10 átomos de C, os quais podem estar dispostos de forma

linear, ramificada ou cíclica: álcoois C_4 - C_{10} (como por exemplo butanol, hexanol, ciclo-hexanol e pentanol), ácidos esterificados C_2 - C_{10} (como por exemplo acetato de etilo (= éster etílico de ácido acético), acetato de metilo, acetato de propilo, acetato de isopropilo, acetato de butilo, acetato de amilo, malonato de etilo e metilo, fosfonato dimetílico), aldeídos C_3 - C_{10} e cetonas C_4 - C_{10} (como por exemplo butanona, pentanona, hexano-2,4-diona, hexanodial, ciclo-hexanocarbaldeído, cetona fenilmetílica e semelhantes), ou compostos alcoxilo C_3 - C_{10} , éter C_2 - C_{10} (éter dietílico, éter metílico *terc*-butílico), nitrilos C_3 - C_6 , e alcanos halogenados C_1 - C_3 (cloreto de metileno) em geral, assim como misturas dos solventes indicados anteriormente. Em especial podem ser utilizados, acetato de alquilo C_1 - C_4 , hexanol, éter dietílico, cloreto de metileno, éter metílico *terc*-butílico e misturas dos solventes indicados anteriormente, como agentes de extracção, na presente invenção. Desta selecção, o acetato de alquilo C_1 - C_4 , e em especial o éster etílico de ácido acético (= acetato de etilo) representa o agente de extracção a ser utilizado de um modo preferido na presente invenção.

Na extracção líquido-líquido realizada, de acordo com a invenção, com uma quantidade suficiente de um agente de extracção, no passo processual (a), a relação de volume da fase aquosa para o agente de extracção, não deve ser entendida como limitativa, no contexto desta invenção. Em geral, é utilizado um volume de solvente orgânico, o qual corresponde ao volume da fase de partida aquosa, em que, no entanto, a relação da fase aquosa para a fase orgânica pode estar numa gama entre 10:1 e 1:10. De um modo preferido, a relação de volume da fase de partida aquosa para o agente de extracção orgânico, está numa

gama de 5:1 até 1:3; em especial, é considerada como conveniente, uma relação de volume numa gama de 2:1 até 1:2.

A realização de um processo de extracção deste género é conhecida pelo especialista a partir do estado da técnica. Usualmente, uma extracção líquido-líquido é realizada num aparelho que possibilita uma mistura contínua da fase aquosa e da fase orgânica não miscível em água. Um denominado aparelho misturador Settler, por exemplo, em que as duas fases são misturadas através de agitação, é adequado para a realização de um processo de extracção deste género.

Em princípio, a extracção líquido-líquido descrita, de acordo com a invenção, é realizável para qualquer valor de pH da fase de partida aquosa. Numa variante especialmente preferida da extracção líquido-líquido descrita, de acordo com a invenção, o valor de pH da fase de partida aquosa é em primeiro lugar ajustado, no passo processual (a), a um valor na gama entre 4 e 12. De um modo preferido, o valor de pH é ajustado a um valor na gama de 4,0 a 7,0, isto é, na gama pouco ácida a neutra. O valor de pH é ajustado, de um modo muito especialmente preferido, a um valor na gama de 4,0 a 6,0, em especial na gama de 4,7 a 5,3.

Durante o ajuste do valor de pH, a solução apresentada é convenientemente misturada, num recipiente inerte suficientemente grande, tal como por exemplo numa vasilha em aço inoxidável, com um agitador ou dispositivo comparável, para garantir assim, um ajuste rápido e uniforme do valor de pH. Para o ajuste do valor de pH, podem ser utilizadas as bases ou ácidos usuais. Assim, por exemplo, para o abaixamento do valor de pH, pode ser utilizado um dos ácidos inorgânicos ou orgânicos

usuais, convenientemente um ácido diluído. A utilização, por exemplo, de ácido sulfúrico diluído, de um modo preferido ácido sulfúrico 1 N, ácido acético diluído, ácido fosfórico diluído ou ácido clorídrico diluído, de um modo preferido ácido clorídrico 1 N resultou especialmente adequada para o abaixamento ou ajuste de um valor de pH menor a 7.

A extracção líquido-líquido descrita, de acordo com a invenção, não exige a regulação de uma temperatura específica, podendo ser realizada numa larga gama de temperatura, que pode estar entre 5 °C e o ponto de ebulição do solvente orgânico ou 95 °C, no máximo. A extracção líquido-líquido, de acordo com a invenção, é realizada de um modo preferido à temperatura ambiente, uma vez que, assim, a necessidade de energia adicional é a mais reduzida. Como temperatura ambiente é considerada, usualmente, a temperatura envolvente; por exemplo é assim designada uma temperatura que está entre 10 ° e 30 °C.

A duração de uma extracção líquido-líquido deste género, não é considerada, no contexto desta invenção, como limitativa e pode estar compreendida entre 5 min e várias horas; a duração oscila em dependência da quantidade da fase de partida aquosa utilizada. Tipicamente, a fase aquosa do passo processual (a) e o agente de extracção orgânico são misturados entre si durante 5 até 60 min, de um modo preferido durante 10 até 20 min, para se alcançar uma transição tão completa quanto possível dos componentes lipofílicos não conjugados da fase aquosa para a fase orgânica.

A seguir ao passo de extracção por mistura, deixa-se a mistura de fases em repouso, para se alcançar uma separação das

fases. A separação de fases pode ter, consoante os volumes utilizados, uma duração de 10 min até várias horas, de um modo preferido deixa-se as fases 30 até 120 min em repouso. Quando a fase aquosa e a fase orgânica se separam uma da outra, a fase aquosa é retirada e guardada para nova utilização, enquanto que a fase orgânica é deitada fora.

O passo processual (a), descrito acima, pode ser, eventualmente repetido; segue-se então, de acordo com a invenção, um passo processual (b) opcional, no qual é realizada, com a fase aquosa obtida do passo processual (a), uma nova extracção líquido-líquido, com uma quantidade suficiente de um agente de extracção, o qual representa um solvente orgânico não miscível, ou muito pouco miscível, com água, adequado para a extracção de compostos lipofílicos não conjugados, em especial de flavonóides não conjugados, isoflavonóides não conjugados, norisoprenóides não conjugados e esteróides não conjugados.

Para a selecção do agente de extracção e o tipo da execução da extracção, isto é, o aparelho a utilizar, a duração e a temperatura do processo de extracção, as possibilidades apresentadas acima, no passo processual (a), devem ser válidas a título exemplar.

Nos passos processuais (a) e (b) podem ser utilizados, em ambos os passos, de acordo com a invenção, tanto agentes de extracção diferentes como também o mesmo agente de extracção. De um modo preferido é utilizado o mesmo agente de extracção, em ambos os passos de extracção. Em especial deve ser utilizado, como agente de extracção, em ambos os passos de extracção, o acetato de alquilo C₁-C₄, mas em especial acetato de etilo.

Na extracção líquido-líquido realizada no passo processual (b), de acordo com a invenção, com uma quantidade suficiente de um agente de extracção, a relação de volume da fase aquosa contendo estrogénios equinos conjugados, já extraída uma vez, do passo processual (a), para o agente de extracção não deve ser entendida como limitativa, no contexto desta invenção. Em geral, é empregue um volume em solvente orgânico, o qual está nitidamente abaixo do volume da fase aquosa obtida do passo processual (a), em que, no entanto, a relação da fase aquosa para a fase orgânica pode estar numa gama entre 40:1 e 1:2. A relação de volume da fase aquosa obtida do passo processual (a) para o agente de extracção orgânico está, de um modo preferido, na gama de 20:1 até 1:1; uma relação de volume na gama de 10:1 até 2:1 é considerada como especialmente conveniente.

A seguir ao passo de extracção por mistura, no passo processual (b), deixa-se a mistura de fases em repouso, para se alcançar uma separação das fases. A separação de fases pode ter, uma duração de 10 min até várias horas, de um modo preferido deixa-se as fases 20 até 90 min em repouso. Quando a fase aquosa e a fase orgânica se separam uma da outra, a fase aquosa é retirada e guardada para nova utilização, enquanto que a fase orgânica é deitada fora.

Após a separação da fase orgânica da fase aquosa é obtida no passo processual (c), uma fase aquosa contendo a mistura natural de estrogénios conjugados. Esta fase aquosa contém a mistura natural de estrogénios conjugados presente na PMU, a par de uma fracção apenas extremamente pequena do teor em componentes

lipofílicos não conjugados presente originalmente na PMU ou nos concentrados de PMU tratados. Esta fase aquosa pode ser, se desejado, novamente concentrada, de modo em si conhecido, para se obter um concentrado consideravelmente isento de solventes orgânicos, adequado para novo processamento. Assim, por exemplo, podem ser retirados da fase aquosa obtida, por destilação, os resíduos de solvente orgânico ainda presentes. Através da destilação, o teor em substância seca da fase de extracto aquoso pode também ser ajustado a um valor concreto, de um modo preferido a um teor em substância seca na gama entre 5 e 15%, em especial a um teor em substância seca de 9%. De seguida, para a estabilização da mistura natural de estrogénios equinos conjugados obtida, pode ainda ser ajustado o valor de pH da solução aquosa de extracto a um valor na gama alcalina, de um modo preferido na gama entre 8 e 13, de um modo preferido a um valor entre 9 e 12. Para o ajuste do valor de pH adequam-se as bases usualmente utilizadas para o ajuste do valor de pH, por exemplo, NaOH 1 N ou Na₂CO₃.

A fase aquosa obtida no passo processual (c), de acordo com a invenção, e eventualmente ainda novamente processada ou concentrada, pode servir como material de partida para a preparação de medicamentos contendo a mistura natural de estrogénios equinos conjugados. Se desejado, pode ser preparada, através de um processo de secagem adequado, como por exemplo, a secagem por pulverização, uma mistura de substância seca livre de agente de eluição. Caso a mistura natural de estrogénios conjugados deva ser utilizada para a preparação de medicamentos sólidos, pode ser conveniente misturar à fase aquosa, que contém os estrogénios conjugados, uma substância de suporte sólido, já antes de uma concentração ou secagem, para obter, deste modo,

uma mistura de matéria sólida contendo os estrogénios conjugados e substâncias de suporte. Tanto a fase aquosa que contém a mistura estrogénica como também um concentrado ou produto de matéria sólida seco daí preparado podem ser introduzidos, de forma em si conhecida, em preparações galénicas sólidas ou líquidas, tal como por exemplo, comprimidos, drageias, cápsulas ou emulsões. Estas preparações galénicas podem ser preparadas de acordo com métodos em si conhecidos, utilizando-se substâncias de suporte sólidas ou líquidas usuais, tais como p. ex. amido, celulose, lactose ou talco ou parafinas líquidas e/ou utilizando-se substâncias auxiliares farmacêuticas usuais, por exemplo agentes desintegrantes de comprimidos, solubilizadores ou conservantes. Assim, o produto contendo os estrogénios conjugados pode ser misturado, de modo em si conhecido, com as substâncias de suporte e as substâncias auxiliares farmacêuticas e a mistura pode ser transferida numa forma de dosagem adequada.

Na extracção líquido-líquido descrita, de acordo com a invenção, são eliminados num processo simples, uma multiplicidade de compostos lipofílicos não conjugados, de uma fase de partida aquosa, a qual pode representar ou uma solução aquosa de uma mistura natural de estrogénios conjugados, da urina de éguas gestantes, já empobrecida em conteúdos de urina fenólicos, um concentrado aquoso de uma mistura natural de estrogénios conjugados, da urina de éguas gestantes, já empobrecida em conteúdos de urina fenólicos, um concentrado de um líquido de urina, ou um concentrado de urina eventualmente purificada previamente por filtração. Nos compostos lipofílicos não conjugados separados, trata-se em especial de flavonóides não conjugados, isoflavonóides não conjugados, norisoprenóides não conjugados e esteróides não conjugados, neste caso, em

especial de derivados não conjugados das séries androstano e pregnano.

Em comparação com os métodos de extracção líquido-líquido clássicos são utilizados aqui volumes mais reduzidos de solventes orgânicos, dado ser sempre utilizado, como fase de partida aquosa, um concentrado da PMU original. Na utilização, por exemplo, de um concentrado aquoso para a fase de partida aquosa da extracção líquido-líquido descrita de acordo com a invenção, o qual foi obtido com base no processo descrito no pedido de patente internacional WO 98/08526, são utilizados apenas cerca de 35 L de concentrado, em lugar de 5000 L de PMU, e, correspondentemente, quantidades mais reduzidas de solventes orgânicos para a extracção.

Utilizando-se como fase de partida aquosa, para a extracção líquido-líquido, de acordo com a invenção, uma solução aquosa de uma mistura natural de estrogénios conjugados da urina de éguas gestantes, já empobrecida em conteúdos de urina fenólicos , ou um concentrado aquoso de uma mistura natural de estrogénios conjugados da urina de éguas gestantes, já empobrecida em conteúdos de urina fenólicos, a mistura natural de estrogénios equinos conjugados empobrecida em componentes lipofílicos não conjugados e em conteúdos de urina fenólicos, obtida como extracto de substância activa, distingue-se por uma optimização nítida da especificação farmacêutica, como foi verificado de acordo com a invenção. Em especial, surge, com a extracção líquido-líquido, uma melhoria de 8 até 20% da relação dos estrogénios equinos conjugados para com a substância seca, sem que, com o processo de extracção, sejam observadas perdas

consideráveis em estrogénios equinos conjugados. Com isto, a fase aquosa obtida no passo processual (c), a qual contém a mistura natural de estrogénios equinos conjugados, apresenta, em comparação com o estado da técnica, uma composição vantajosa e um teor total de hormona, relativamente à substância seca, mais elevado. Desta maneira, é obtido um produto de qualidade nitidamente melhorado, p. ex. relativamente à composição e ao teor de substância activa.

Deve ser referido como notavelmente surpreendente que, um processo, supostamente simples, de extracção líquido-líquido de uma solução ou concentrado aquosos de uma mistura natural de estrogénios conjugados da urina de éguas gestantes, empobrecida em conteúdos de urina fenólicos, contendo quantidades diferentes e variáveis de componentes lipofílicos não conjugados, possa contribuir deste modo para a melhoria de qualidade do extracto de substância activa obtido. Em especial, é muito surpreendente que, a fracção em compostos lipofílicos não conjugados, que pode oscilar fortemente, tanto em termos de quantidade como também na composição, em dependência da PMU utilizada, possa ser reduzida de forma segura, de tal modo que, através do processo, de acordo com a invenção, possa ser obtida como fase aquosa, no passo processual (c), uma mistura natural de estrogénios equinos conjugados, a qual satisfaz as elevadas exigências na especificação farmacêutica colocadas, por exemplo, de acordo com as exigências da USP ou da farmacopeia europeia.

Além disso, deve ser visto como muito surpreendente que, durante a realização do processo de extracção de acordo com a invenção, possam também ser separados aqueles compostos lipofílicos não conjugados, tal como por exemplo, agentes

antiespuma, os quais foram adicionados anteriormente à PMU, como substâncias auxiliares, em passos de tratamento intercalados, por exemplo no contexto da preparação do concentrado.

No processo, de acordo com a invenção, constatou-se como outra vantagem que, o tratamento posterior do concentrado extraído, obtido na forma de uma mistura natural de estrogénios equinos conjugados empobrecida em compostos lipofílicos não conjugados, e a sua passagem a uma forma galénica é substancialmente simplificada e facilitada. Surpreendentemente, o extracto de substância activa obtido com o processo, de acordo com a invenção, distingue-se por um comportamento de secagem muito bom e a matéria sólida obtida após a secagem, por uma fluidez extremamente boa. Assim, por exemplo, o concentrado extraído, obtido de acordo com a invenção, deixa-se aplicar de modo nitidamente mais fácil sobre material de suporte, do que uma solução não extraída. Também o ajuste da concentração de substância activa é simplificada e reproduzível.

O processo, de acordo com a invenção, oferece, como já descrito anteriormente em detalhe, uma série de vantagens e melhorias face ao estado da técnica. Assim, a invenção possibilita a utilização, também, de PMU contendo quantidades variáveis de componentes lipofílicos não conjugados, que pode apresentar, por exemplo, uma fracção elevada em flavonóides livres, isoflavonóides livres, norisoprenóides livres ou derivados de esteróides livres, aqui em especial, em esteróides da série androstano e da série pregnano livres, sem que sejam comprometidas as especificações farmacêuticas a respeitar. Com o processo, de acordo com a invenção, pode ser garantida uma

composição uniforme das cargas de extracto individuais, dado que os componentes lipofílicos não conjugados, cujo teor e composição pode variar, na PMU, em dependência do tipo de alimento consumido pelas éguas gestantes, são sempre eliminados e, com isto, os extractos obtidos apresentam todos um teor comparável em estrogénios equinos conjugados, relativamente à substância seca. Além disso, com o processo de acordo com a invenção, é alcançada, através da separação conseguida dos componentes lipofílicos não conjugados, uma concentração mais elevada das substâncias activas, isto é, dos estrogénios equinos conjugados, no extracto obtido. O processo, de acordo com a invenção, apresenta adicionalmente também vantagens económicas, dado que é nitidamente reduzido o perigo de perder substâncias activas valiosas no caso de não se respeitar a especificação farmacêutica, por exemplo no caso de teores em estrogénios conjugados insuficientes, relativamente à substância seca. Além disso, através da aplicação do processo descrito, de acordo com a invenção, é possibilitado um ajuste consideravelmente mais preciso e reproduzível do teor de substância activa do extracto obtido. O processo, de acordo com a invenção, fornece uma componente de substância activa melhorada em qualidade, com um teor hormonal mais elevado, relativamente ao teor em substância seca. Esta componente de substância activa adequa-se de forma excelente para a preparação de fármacos, que contêm uma mistura natural de estrogénios equinos conjugados, como substância activa.

Os exemplos seguintes devem explicar mais detalhadamente a invenção sem, no entanto, limitar o seu alcance.

Exemplos

Nos exemplos seguintes é indicada uma instrução de trabalho geral, para a obtenção de extractos de substância activa, a partir de PMU, que contêm a mistura natural dos estrogénios conjugados contidos na PMU e que estão consideravelmente empobrecidos em compostos lipofílicos não conjugados, tal como por exemplo, flavonóides não conjugados, isoflavonóides não conjugados, norisoprenóides não conjugados, esteróides não conjugados, em especial esteróides da série androstano e da série pregnano, e compostos não conjugados comparáveis. Mostra-se como é possível, de acordo com a invenção, obter um extracto de qualidade com elevados teores de substância activa, também a partir de PMU que pode apresentar fracções de compostos lipofílicos variáveis ou mais elevados.

Extracção de um concentrado aquoso de uma mistura natural de estrogénios conjugados da urina de éguas gestantes, já empobrecida em conteúdos de urina fenólicos

São utilizados, como fase de partida aquosa, 35,3 kg (exemplo 1) ou 26,7 kg (exemplo 2) de concentrado aquoso de uma mistura natural de estrogénios conjugados da urina de éguas gestantes, já empobrecida em conteúdos de urina fenólicos, que foram preparados, com auxílio do processo descrito no pedido de patente internacional WO 98/08526, a partir de cerca de 5000 L de PMU (teor em substância seca (= TS) e também teores em estrogénios conjugados, por exemplo sal de sulfato de estrona, e compostos lipofílicos não conjugados, por exemplo formononetina,

determinados por HPLC e GC, são apresentados na tabela de exemplos seguinte, para diferentes cargas de concentrado aquoso utilizado). Este concentrado aquoso é misturado num recipiente de aço inoxidável, com auxílio de um agitador, enquanto o valor de pH é ajustado, com H_2SO_4 1N a um valor de cerca de 5,0. A solução obtida é misturada, num aparelho misturador Settler, numa relação de 10:8 da fase aquosa para a fase orgânica, com acetato de etilo (EE-dados de quantidade ver tabela de exemplo seguinte) e é agitada fortemente durante cerca de 15 min. Depois, deixa-se a mistura durante cerca de 90 min em repouso, para separação das fases. De seguida, as fases são separadas e a fase aquosa é novamente misturada numa relação de 10:2 da fase aquosa para a fase orgânica, com acetato de etilo (EE-dados de quantidade ver tabela de exemplo seguinte) e é agitada durante 15 min. Após a extracção deixa-se a mistura durante cerca de 30 min em repouso, para a separação das fases. Após a separação da fase orgânica, a fase aquosa é transferida para uma cuba de reacção. Da fase aquosa, são retirados por destilação, sob pressão normal, os resíduos de acetato de etilo ainda presentes. O teor em substância seca é ajustado, através da destilação, a cerca de 9%. O valor de pH da solução é, de seguida, ajustado a cerca de 11,0, através da adição de NaOH 1N ou de Na_2CO_3 . O teor em estrogénios conjugados da fase de extracto aquosa, assim obtida, é verificado através de análises HPLC e GC (teor em substância seca (= TS) e também teores em estrogénios conjugados, por exemplo sal de sulfato de estrona, e compostos lipofílicos não conjugados, por exemplo formononetina, determinados por HPLC e GC, são apresentados na tabela de exemplo seguinte, para diferentes cargas de concentrado aquoso utilizado). A relação dos componentes hormonais individuais uns relativamente aos outros, isto é, a fracção relativa de sulfato de estrona, de sulfato de equilina e de sulfato de 17-alfa-DH-

equilina, na mistura de estrogénios conjugados, pode variar nas cargas individuais, devido às oscilações naturais na PMU. Através da mistura orientada de cargas individuais entre si, pode ser ajustada a relação desejada dos componentes hormonais individuais entre si.

	Exemplo 1			Exemplo 2		
	Teor	Quantidade	% peso	Teor	Quantidade	% peso
	[mg/g]	[g]	TS	[mg/g]	[g]	TS
Concentrado de partida aquosa		35,300			26,700	
Substância seca (% peso)	(9,8)	3,495		(9,4)	2,510	
Estrogénios conjugados (total)	26,2	924	26,7	25,8	688	27,4
Sulfato de estrona	12,2	431	12,4	16,9	452	18,0
Sulfato de equilina	9,3	328	9,5	5,8	156	6,2
Sulfato de 17-alfa- DH-equilina	4,7	166	4,8	3,0	80	3,2
Formononetina	0,17	5,9	0,17	0,32	8,4	0,34
1.EE-extracção (éster acético)		25,400			19,400	
2.EE-extracção (éster acético)		6,400			4,900	
Fase de extracto aquosa obtida		34,000			23,500	
Substância seca (% peso)	(8,9)	3,026		(8,9)	2,092	
Estrogénios conjugados (total)	26,3	896	29,6	27,9	656	31,4

	Exemplo 1			Exemplo 2		
	Teor	Quantidade	% peso	Teor	Quantidade	% peso
	[mg/g]	[g]	TS	[mg/g]	[g]	TS
Sulfato de estrona	12,4	420	13,9	18,5	434	20,8
Sulfato de equilina	9,3	317	10,5	6,3	147	7,0
Sulfato de 17-alfa-DH-equilina	4,6	158	5,2	3,2	75	3,6
Formononetina	0	0	0	0	0	0

Este processo de extracção pode ser realizado de modo análogo se, em lugar do concentrado aquoso de uma mistura natural de estrogénios conjugados da urina de éguas gestantes, já empobrecida em conteúdos de urina fenólicos, for utilizado, como fase de partida aquosa, ou um concentrado de um líquido de urina, um concentrado de urina eventualmente previamente purificado por filtração ou uma solução aquosa de uma mistura natural de estrogénios conjugados da urina de éguas gestantes, já empobrecida em conteúdos de urina fenólicos.

Lisboa, 29 de Abril de 2009

REIVINDICAÇÕES

1. Processo para obtenção de uma mistura natural de estrogénios equinos conjugados, caracterizado por a mistura obtida ser empobrecida em compostos lipofílicos não conjugados do grupo compreendendo flavonóides não conjugados, isoflavonóides não conjugados, norisoprenóides não conjugados, esteróides não conjugados, em especial esteróides da série androstano e esteróides da série pregnano, e compostos não conjugados comparáveis e por o processo se distinguir por se

a) submeter uma fase de partida aquosa, seleccionada do grupo compreendendo

(i) uma solução aquosa de uma mistura natural de estrogénios conjugados da urina de éguas gestantes, já empobrecida em conteúdos de urina fenólicos,

(ii) um concentrado aquoso de uma mistura natural de estrogénios conjugados da urina de éguas gestantes, já empobrecida em conteúdos de urina fenólicos,

(iii) um concentrado de um líquido de urina obtido por concentração, e

(iv) um concentrado de urina libertado de substâncias sólidas e viscosas, o qual foi purificado previamente através de processos

de separação seleccionados do grupo compreendendo a decantação, separação, filtração e combinações dos processos indicados anteriormente, ou um retentado de urina reconcentrado obtido por filtração,

a uma extracção líquido-líquido com uma quantidade suficiente de um agente de extracção e se separar em seguida a fase aquosa, em que o agente de extracção representa um solvente orgânico adequado para a extracção de compostos lipofílicos não conjugados, do grupo acima indicado, não miscível, ou muito pouco miscível em água, e é seleccionado do grupo constituído por álcoois C_4-C_{10} lineares, ramificados ou cíclicos, ácidos esterificados C_2-C_{10} , aldeídos C_3-C_{10} , cetonas C_4-C_{10} , éteres C_2-C_{10} , nitrilos C_3-C_6 , e alcanos halogenados C_1-C_3 e misturas dos solventes indicados anteriormente, e

- b) repetir, eventualmente, com a fase aquosa obtida, o passo processual (a), e
- c) obter uma fase aquosa contendo a mistura natural de estrogénios conjugados e, eventualmente, concentrá-la.

2. Processo de acordo com a reivindicação 1, onde no passo processual (a) é utilizada, como fase de partida aquosa, uma solução (i) aquosa de uma mistura natural de

estrogénios conjugados da urina de éguas gestantes, já empobrecida em conteúdos de urina fenólicos, ou um concentrado (ii) aquoso de uma mistura natural de estrogénios conjugados da urina de éguas gestantes, já empobrecida em conteúdos de urina fenólicos.

3. Processo de acordo com a reivindicação 2, onde o empobrecimento em conteúdos de urina fenólicos ocorre por extracção de fase sólida, em resinas adsorventes não iónicas semipolares ou em sílica gel hidrofobizada.
4. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, onde o agente de extracção é seleccionado do grupo constituído por acetato de alquilo C_1-C_4 , hexanol, éter dietílico, cloreto de metileno, éter metílico *terc*-butílico e misturas dos solventes indicados anteriormente.
5. Processo de acordo com a reivindicação 4, onde o agente de extracção é acetato de alquilo C_1-C_4 , de um modo preferido acetato de etilo.
6. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 até 5, onde no passo processual (a), a fase de partida aquosa está ajustada a um valor de pH na gama entre 4 e 12.
7. Processo de acordo com a reivindicação 6, onde o valor de pH está ajustado na gama de 4,0 até 7,0, em especial na gama de 4,0 até 6,0 e de um modo preferido na gama de 4,7 até 5,3.

8. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 7, onde no passo processual (a), a relação de volume da fase de partida aquosa para o agente de extracção está na gama de 5:1 até 1:3, de um modo preferido na gama de 2:1 até 1:2.
9. Processo de acordo com qualquer uma as reivindicações 1 até 8, onde no passo processual (b), a relação de volume da fase aquosa, obtida do passo processual (a), para o agente de extracção está na gama de 20:1 até 1:1, de um modo preferido na gama de 10:1 para 2:1.

Lisboa, 29 de Abril de 2009

RESUMO

"PROCESSO PARA OBTENÇÃO DE UMA MISTURA NATURAL DE ESTROGÉNIOS EQUINOS CONJUGADOS, EMPOBRECIDA EM COMPOSTOS LIPOFÍLICOS NÃO CONJUGADOS"

É descrito um processo para obtenção de um extracto contendo a mistura natural de estrogénios equinos conjugados, através de extracção líquido-líquido da mistura de estrogénios equinos conjugados, em que a mistura obtida está empobrecida em compostos lipofílicos não conjugados, do grupo compreendendo flavonóides não conjugados, isoflavonóides não conjugados, norisoprenóides não conjugados, esteróides não conjugados, em especial esteróides da série androstano e esteróides da série pregnano, e compostos não conjugados comparáveis.