

19



Bureau voor de
Industriële Eigendom
Nederland

11 1009437

12 C OCTROOI²⁰

21 Aanvraag om octrooi: 1009437

22 Ingediend: 18.06.1998

51 Int.Cl.⁷

A61K35/78, A61K31/35, A61K31/48,
B01D11/02

41 Ingeschreven:
21.12.1999

47 Dagtekening:
21.12.1999

45 Uitgegeven:
01.02.2000 I.E. 2000/02

73 Octrooihouder(s):
XenoBiosis te Amsterdam.

72 Uitvinder(s):
Henri Marie Ruijten te Bussum

74 Gemachtigde:
Drs. A. Kupecz c.s. te 1000 HB Amsterdam.

54 **Extractiewerkwijze.**

57 De onderhavige uitvinding heeft betrekking op een werkwijze voor het extraheren van een verbinding uit plantaardig materiaal, waarbij het plantaardige materiaal wordt verkleind en met een oplosmiddel wordt behandeld. Volgens de uitvinding wordt het plantaardige materiaal bevroren met vloeibare stikstof en in bevroren toestand verkleind.
Volgens twee belangrijke voorkeursuitvoeringen is het plantaardige materiaal afkomstig van de ginkgo boom, in het bijzonder verse bladeren, en wordt als oplosmiddel water toegepast.
De uitvinding heeft tevens betrekking op een farmaceutisch preparaat en een cosmetisch preparaat die als actief bestanddeel een verbinding verkregen met behulp van de werkwijze volgens de uitvinding bevatten.

NL C 1009437

De inhoud van dit octrooi komt overeen met de oorspronkelijk ingediende beschrijving met conclusie(s) en eventuele tekeningen.

Extractiewerkwijze

De onderhavige uitvinding heeft betrekking op een werkwijze voor het extraheren van een verbinding uit plantaardig materiaal, waarbij het plantaardige materiaal wordt verkleind, met een oplosmiddel aan een extractiebehandeling
5 wordt onderworpen en vervolgens de niet-opgeloste delen van het oplosmiddel met de verbinding wordt gescheiden.

Een dergelijke werkwijze is van oudsher bekend. Hierbij kan worden gedacht aan het trekken van thee en het maken van tincturen. In beide gevallen worden gebruikelijk
10 niet-opgeloste delen van het oplosmiddel dat de verbinding bevat gescheiden. Dit kan, bijvoorbeeld, geschieden door middel van filtreren of centrifugeren.

De bekende werkwijzen hebben het nadeel dat de actieve verbinding(en) in meer of mindere mate in de afge-
15 scheiden niet-oplosbare delen achterblijven.

De onderhavige uitvinding heeft tot doel een werkwijze van de in de aanhef genoemde soort te verschaffen waarbij de opbrengst aan actieve verbinding kan worden verhoogd.

20 Hiertoe wordt de werkwijze gekenmerkt doordat het plantaardige materiaal met een vloeibaar gemaakt gas wordt bevroren en in bevroren toestand wordt verkleind alvorens met de vloeistof te worden geëxtraheerd.

Aldus wordt het plantenmateriaal op een doeltreffende wijze ontsloten en wordt een hoog opbrengstpercentage
25 verzekerd. Vloeibare stikstof is door zijn inerte (niet-oxidatieve) karakter en lage prijs zeer geschikt.

Europees octrooi 0 477 968 beschrijft een werkwijze voor het bereiden van een extract van Ginkgo biloba door
30 bladeren te behandelen met waterige aceton, een waterige alkanol met 1 tot 3 C-atomen of watervrije methanol bij een temperatuur van 40 tot 100°C. Deze oplossing wordt, na verwijdering van vaste delen, behandeld met ammoniumsulfaat, methylethylketon en het aldus verkregen extract wordt met een
35 hogere alkanol geëxtraheerd. Na verscheidene verdere stappen wordt een extract verkregen dat 20 tot gew.% flavonglycoci-

den, 2,5 tot 4,5 gew.% ginkgoliden A, B, C en J, en 2,0 tot 4,0 gew.% bilobalide bevat. De beschreven extractiewijze is zeer bewerkelijk.

Europees octrooi 0 431 535 beschrijft een werkwijze voor het bereiden van een extract van *Ginkgo biloba* bladeren welke in hoofdzaak overeenstemt met de hierboven beschreven werkwijze. Daarenboven wordt gebruik gemaakt van een loodzout voor verdere zuivering. Derhalve is deze extractiewijze eveneens zeer bewerkelijk en maakt daarenboven gebruik van een uit milieukundig en gezondheidskundig kwalijke loodverbinding.

Volgens een belangrijke uitvoeringsvorm is het plantaardige materiaal gekozen uit een groep bestaande uit plantendelen van de ginkgoboom (*Ginkgo biloba*) en van *Huperzia serrata*.

Dergelijk plantaardig materiaal blijkt uitstekend met de werkwijze volgens de onderhavige uitvinding te extraheren onder oplevering van farmaceutisch hoogwaardige oplosingen. Uit plantendelen van de ginkgoboom kunnen ginkgoliden en flavonoïden worden geëxtraheerd. Uit plantendelen van *Huperzia serrata* kan huberazine worden geïsoleerd. Al deze verbindingen hebben interessante farmaceutische eigenschappen.

Bij voorkeur zijn de plantendelen van de ginkgoboom verse bladeren en wordt als oplosmiddel water toegepast.

Verrassenderwijs blijkt op deze wijze met minder werkwijze stappen een zuiverder preparaat te kunnen worden verkregen. In de onderhavige aanvraag wordt onder water een vloeistof verstaan welke in hoofdzaak uit water bestaat, en tot 10% van een wateroplosbare alcohol of keton, zoals acetone, kan bevatten. Het water kan tevens zouten bevatten welke het oplossen van niet-gewenste verbindingen voorkomen en/of het neerslaan van dergelijke verbindingen bevorderen. Ook kan het water enzymen bevatten die de celstructuur van het plantenmateriaal verzwakt. De pH kan binnen een breed bereik worden gevarieerd, doch zal in het algemeen kleiner zijn dan 7. In het vak is het bereiden van een extract van ginkgobladeren bekend. Hierbij worden ginkgobladeren eerst gedroogd en vervolgens met een alcohol of keton, welke enig water kunnen

bevatten, geëxtraheerd. Voor het verkrijgen van een product met een voldoende hoog gehalte aan actieve verbinding zijn verdere bewerkelijke opwerkstappen noodzakelijk, hetgeen de kostprijs van het product verhoogt.

5 In het bijzonder geniet het voor het verkrijgen van een kwalitatief hoogwaardig product de voorkeur als de plantendelen van de ginkgoboom afkomstig zijn van een 1-15 jaar oude ginkgoboom, bij voorkeur 1 tot 5 jaar oude ginkgoboom en met de meeste voorkeur 3 jaar oude ginkgoboom.

10 Voor het verkrijgen van een preparaat met een geschikte verhouding ginkgoliden en flavonoïden ligt de pH van het water bij voorkeur tussen 4 en 7 ligt.

Voor het verder verhogen van de opbrengst kan met voordeel na het verkleinen een de celwand afbrekend enzym, 15 zoals cellulose, worden toegevoegd.

Bij voorkeur wordt dan gedurende ten hoogste 3 uur met water geëxtraheerd.

Teneinde een goede zuiverheid te verzekeren wordt de extractiebehandeling geschikt voorkeur uitgevoerd bij een 20 temperatuur van 10 tot 60°C, bij voorkeur 20 tot 40°.

Voor het verkrijgen van een lang houdbaar de verbinding bevattend preparaat wordt volgens een gunstige uitvoeringsvorm de oplossing met de verbinding gedroogd, geschikt door sproeidrogen.

25 In overeenstemming met het voorgaande heeft de uitvinding tevens betrekking op een tweetal preparaten.

In het bijzonder heeft de uitvinding betrekking op een farmaceutisch preparaat dat als actief bestanddeel een verbinding verkregen met behulp van een werkwijze volgens de 30 uitvinding bevat tezamen met een farmaceutisch aanvaardbare vulstof of drager.

Een dergelijk farmaceutisch preparaat kan bijvoorbeeld worden toegepast voor de behandeling van patiënten met de ziekte van Alzheimer, patiënten met klachten als gevolg 35 van langdurig contact met organische oplosmiddelen enz. De farmaceutische preparaten volgens de uitvinding kunnen in elke vorm worden toegediend, in het bijzonder zal orale of parenterale toediening de voorkeur genieten.

Verder heeft de uitvinding betrekking op een kosme-

tisch preparaat dat als actief bestanddeel een verbinding verkregen met behulp van een werkwijze volgens de uitvinding bevat tezamen met een cosmetisch aanvaardbare topische dra-ger.

5 Een dergelijk cosmetisch preparaat kan bijdragen aan het jong en soepel houden van de huid.

De uitvinding zal thans worden toegelicht aan de hand van het volgende uitvoeringsvoorbeeld.

Voorbeeld I

10 Aan 10 g ginkgobladeren worden binnen 72 uur na het plukken ervan in contact gebracht met vloeibare stikstof (3 ml). De ginkgobladeren worden met behulp van een porceleinen vijzel verpoederd. Vervolgens wordt 100 ml water (pH=4-5) toegevoegd en er wordt gedurende 2 uur gemengd, waarbij de
15 extractie wordt uitgevoerd bij een pH van 4-5. De vloeistof, die als actieve bestanddelen ginkgoliden en flavonoïden bevat, wordt van de vaste delen gescheiden door middel van filtreren over een grofmazig filter, en vervolgens aan micro-
20 filtratie 0,45 μ m hydrofiel filter onderworpen. De aldus verkregen oplossing wordt gesproeidroogd 0,45 μ m hydrofiel filter. Het gehalte aan actieve bestanddelen blijkt circa 6 gew.% ginkgoliden en circa 24 gew.% flavonoïden.

CONCLUSIES

1. Werkwijze voor het extraheren van een verbinding uit plantaardig materiaal, waarbij het plantaardige materiaal wordt verkleind, met een oplosmiddel aan een extractiebehandeling wordt onderworpen en vervolgens de niet-opgeloste
5 delen van het oplosmiddel met de verbinding wordt gescheiden, **met het kenmerk**, dat het plantaardige materiaal met een vloeibaar gemaakt gas wordt bevroren en in bevroren toestand wordt verkleind alvorens met de vloeistof te worden geëxtraheerd.
- 10 2. Werkwijze volgens conclusie 1, **met het kenmerk**, dat het plantaardige materiaal is gekozen uit een groep bestaande uit plantendelen van de ginkgoboom en van *Huperzia serrata*.
- 15 3. Werkwijze volgens conclusie 3, **met het kenmerk**, dat de plantendelen van de ginkgoboom verse bladeren zijn en als oplosmiddel water wordt toegepast.
- 20 4. Werkwijze volgens conclusie 2 of 3, **met het kenmerk**, dat de plantendelen van de ginkgoboom afkomstig zijn van een 1-15 jaar oude ginkgoboom, bij voorkeur 1 tot 5 jaar oude ginkgoboom en met de meeste voorkeur 3 jaar oude ginkgoboom.
5. Werkwijze volgens conclusie 3 of 4, **met het kenmerk**, dat de pH van het water tussen 4 en 7 ligt.
- 25 6. Werkwijze volgens een van de conclusies 2 tot 5, **met het kenmerk**, dat na het verkleinen een de celwand afbrekend enzym wordt toegevoegd.
7. Werkwijze volgens een van de conclusies 3 tot 6, **met het kenmerk**, dat gedurende ten hoogste 3 uur met water wordt geëxtraheerd.
- 30 8. Werkwijze volgens een van de conclusies 3 tot 7, **met het kenmerk**, dat de extractiebehandeling wordt uitgevoerd bij een temperatuur van 10 tot 60°C, bij voorkeur 20 tot 40°.
9. Werkwijze volgens één der voorgaande conclusies, **met het kenmerk**, dat het verkregen extract aan een microfil-
35 tratie wordt onderworpen.
10. Werkwijze volgens een der voorgaande conclusies,

met **het kenmerk**, dat de oplossing met de verbinding wordt gedroogd geschikt door sproeidrogen.

11. Farmaceutisch preparaat dat als actief bestand-
deel een verbinding verkregen met behulp van een werkwijze
5 volgens een van de voorgaande conclusies bevat tezamen met
een farmaceutisch aanvaardbare vulstof of drager.

12. Kosmetisch preparaat dat als actief bestanddeel
een verbinding verkregen met behulp van een werkwijze volgens
een van de voorgaande conclusies bevat tezamen met een kosme-
10 tisch aanvaardbare topische drager.



RAPPORT BETREFFENDE HET ONDERZOEK NAAR DE STAND VAN DE TECHNIEK

Octrooiaanvraag Nr.:

NO 134230

NL 1009437

VAN BELANG ZIJNDE LITERATUUR

Categorie	Vermelding van literatuur met aanduiding voor zover nodig, van speciaal van belang zijnde passages	Van belang voor conclusie(s)Nr.	Internationale classificatie
A	WO 96 39812 A (PHYTON INC) 19 December 1996 ---		A61K35/78
A	DATABASE WPI Section Ch, Week 7529 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class D13, AN 75-49034W XP002095997 & SU 440 394 A (KOMAROV BOTANY INST) , 4 Februari 1975 * samenvatting *		
A	EP 0 477 968 A (SCHWABE WILLMAR GMBH & CO) 1 April 1992 ---		
A	EP 0 431 535 A (SCHWABE WILLMAR GMBH & CO) 12 Juni 1991 -----		
			Onderzochte gebieden van de techniek
			A61K

Indien gewijzigde conclusies zijn ingediend, heeft dit rapport betrekking op de conclusies ingediend op

Plaats van onderzoek

'S-GRAVENHAGE

Datum waarop het onderzoek werd voltooid

9 Maart 1999

Vooronderzoeker (EOB)

REMPP, G

CATEGORIE VAN DE VERMEDELDE LITERATUUR

- X : op zichzelf van bijzonder belang
- Y : van bijzonder belang in samenhang met andere documenten van dezelfde categorie
- A : achtergrond van de stand van de techniek
- O : verwijzend naar niet op schrift gestelde van de techniek
- P : literatuur gepubliceerd tussen voorrangs- en indieningsdatum

- T : niet tijdig gepubliceerde literatuur over theorie of principe ten grondslag liggend aan de uitvinding
- E : andere octrooipublicatie maar gepubliceerd op of na indieningsdatum
- D : in de aanvraag genoemd
- L : om andere redenen vermelde literatuur

& : lid van dezelfde octrooifamilie, corresponderende literatuur document

**AANHANGSEL BEHORENDE BIJ HET RAPPORT BETREFFENDE
HET ONDERZOEK NAAR DE STAND VAN DE TECHNIEK,
UITGEVOERD IN DE OCTROOIAANVRAGE NR.**

NO 134230
NL 1009437

Het aanhangsel bevat een opgave van elders gepubliceerde octrooiaanvragen of octrooien (zogenaamde leden van dezelfde octroofamilie), die overeenkomen met octrooischriften genoemd in het rapport.
De opgave is samengesteld aan de hand van gegevens uit het computerbestand van het Europees Octrooibureau per
De juistheid en volledigheid van deze opgave wordt noch door het Europees Octrooibureau, noch door de Octrooiraad gegarandeerd ;
de gegevens worden verstrekt voor informatiedoeleinden.

09-03-1999

In het rapport genoemd octrooigeschrift	Datum van publicatie	Overeenkomend(e) geschrift(en)	Datum van publicatie
WO 9639812 A	19-12-1996	AU 701381 B	28-01-1999
		AU 6383696 A	30-12-1996
		CA 2223959 A	19-12-1996
		EP 0830059 A	25-03-1998
		GB 2316854 A,B	11-03-1998
		GB 2321840 A,B	12-08-1998
EP 0477968 A	01-04-1992	DE 4030758 A	02-04-1992
		AT 121941 T	15-05-1995
		CA 2052392 A	29-03-1992
		DE 69109426 D	08-06-1995
		DE 69109426 T	07-09-1995
		ES 2077130 T	16-11-1995
		JP 2045746 C	25-04-1996
		JP 4288019 A	13-10-1992
		JP 7076177 B	16-08-1995
		US 5512286 A	30-04-1996
EP 0431535 A	12-06-1991	DE 3940091 A	06-06-1991
		CA 2031385 A	05-06-1991
		DE 69007035 D	07-04-1994
		DE 69007035 T	01-06-1994
		DK 431535 T	28-03-1994
		ES 2024400 T	16-04-1994
		GR 91300122 T	20-03-1992
		JP 2045722 C	25-04-1996
		JP 3279331 A	10-12-1991
		JP 7076176 B	16-08-1995
		US 5399348 A	21-03-1995