

PCTWELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales BüroINTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation ⁶ : C07H 23/00, A61K 31/70, 35/78	A1	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 96/19490 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 27. Juni 1996 (27.06.96)
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP95/04776 (22) Internationales Anmeldedatum: 5. December 1995 (05.12.95) (30) Prioritätsdaten: P 44 46 092.9 22. December 1994 (22.12.94) DE (71)(72) Anmelder und Erfinder: PANDALIS, Georgios [GR/DE]; Füchtenweg 3, D-49219 Glandorf (DE). (74) Anwalt: GRÜNECKER, KINKELDEY, STOCKMAIR & SCHWANHÄUSSER; Maximilianstrasse 58, D-80538 München (DE).		(81) Bestimmungsstaaten: AL, AM, AT, AU, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, HU, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LK, LR, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, TJ, TM, TT, UA, UG, US, UZ, VN, europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG), ARIPO Patent (KE, LS, MW, SD, SZ, UG). Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht. Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist. Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.</i>
(54) Title: VITAMIN B ₁₂ -CONTAINING SALLOW THORN CONCENTRATES OR EXTRACTS (54) Bezeichnung: VITAMIN B ₁₂ -HALTIGE SANDDORNKONZENTRATE ODER -EXTRAKTE (57) Abstract Vitamin B₁₂-containing sallow thorn concentrates or extracts are disclosed, as well as a process for preparing the same and the use of sallow thorn for preventing or treating vitamin B₁₂ deficiencies. (57) Zusammenfassung Die Erfindung betrifft Vitamin B₁₂-haltige Sanddornkonzentrate oder -extrakte, Verfahren zu deren Herstellung und die Verwendung von Sanddorn zur Prophylaxe oder Behandlung von Vitamin B₁₂-Mangelercheinungen.		

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AT	Österreich	GA	Gabon	MR	Mauretanien
AU	Australien	GB	Vereinigtes Königreich	MW	Malawi
BB	Barbados	GE	Georgien	NE	Niger
BE	Belgien	GN	Guinea	NL	Niederlande
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	NO	Norwegen
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	NZ	Neuseeland
BJ	Benin	IE	Irland	PL	Polen
BR	Brasilien	IT	Italien	PT	Portugal
BY	Belarus	JP	Japan	RO	Rumänien
CA	Kanada	KE	Kenya	RU	Russische Föderation
CF	Zentrale Afrikanische Republik	KG	Kirgisistan	SD	Sudan
CG	Kongo	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SE	Schweden
CH	Schweiz	KR	Republik Korea	SI	Slowenien
CI	Côte d'Ivoire	KZ	Kasachstan	SK	Slowakei
CM	Kamerun	LI	Liechtenstein	SN	Senegal
CN	China	LK	Sri Lanka	TD	Tschad
CS	Tschechoslowakei	LU	Luxemburg	TG	Togo
CZ	Tschechische Republik	LV	Lettland	TJ	Tadschikistan
DE	Deutschland	MC	Monaco	TT	Trinidad und Tobago
DK	Dänemark	MD	Republik Moldau	UA	Ukraine
ES	Spanien	MG	Madagaskar	US	Vereinigte Staaten von Amerika
FI	Finnland	ML	Mali	UZ	Usbekistan
FR	Frankreich	MN	Mongolei	VN	Vietnam

"Vitamin B₁₂-haltige Sanddornkonzentrate oder -extrakte"

Die vorliegende Erfindung betrifft Vitamin B₁₂-haltige Sanddornkonzentrate oder -extrakte, Verfahren zu deren Herstellung und die Verwendung von Sanddorn.

Vitamine der Vitamin B₁₂-Gruppe sind die halbsystematisch Cobalamin genannten Cobalt(III)-haltigen Corrinoide. Unter Vitamin B₁₂ schlechthin versteht man im allgemeinen das Cyanocobalamin, das bei der Isolierung aus dem natürlich vorkommenden Coenzym B₁₂ in Gegenwart von Cyanid-Ionen entsteht. Vitamin B₁₂ gehört neben Biotin zu den Spurenvitaminen. Eine ausreichende Vitamin B₁₂-Zufuhr ist vor allem für die normale Blutbildung (Erythropoese) erforderlich, außerdem für die Funktion der Nervenzellen und für das Wachstum. Insbesondere stimuliert es die Nukleinsäuresynthese. Bei einem Mangel an Vitamin B₁₂ ist die Entwicklung der Erythrozyten im Knochenmark gestört (Römpp Chemie Lexikon, 9. Auflage, 1992, Seite 4946).

Mangelzustände an Vitamin B₁₂ können bedingt sein durch Endoparasitenbefall (z.B. Fischbandwurm), chronische Magen-Darm-Erkrankungen, Einnahme von Medikamenten (z.B. bestimmte Antikonvulsiva oder orale Antidiabetika) und bei chronischer Unterversorgung, insbesondere bei Meidung tierischer Lebensmittel bei streng vegetarischer Ernährung (Teufel, Ternes, Tunger, Zobel, Lebensmittellexikon, Band 2, 3. Auflage, 1993, Seite 796).

Mikroorganismen sind die bisher einzig bekannten Lebewesen, die Vitamin B₁₂ synthetisieren können. Somit wird bei verschiedenen Tierarten über die enterale Synthese (Darmflora) ein mehr oder weniger entscheidender Beitrag zur Bedarfsdeckung geleistet. Bei vielen Tieren (Herbivoren) reicht die enterale Eigensynthese völlig aus, Carnivoren decken ihren Bedarf nicht nur über die Synthese durch die Darmflora, sondern gleichzeitig durch die Vitamin B₁₂-Aufnahmen mit Fleisch. Der Mensch kann enteral, d.h. im Dickdarm synthetisiertes, Vitamin B₁₂ nur unzureichend ausnutzen und ist deshalb auf die zusätzliche Aufnahme von Vitamin B₁₂ mit der Nahrung angewiesen. Wesentliche Vitamin B₁₂-Quellen, die zur Bedarfsdeckung beitragen, sind tierische Produkte, vor allem Leber, Niere, Herz, aber auch Eier und Milch. Rein vegetarische Kost ist nahezu frei von Vitamin B₁₂. (K.-H. Bässler, E. Grünh, D. Loew und H. Petrzik, Vitaminlexikon, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, Jena, New York, 1992, Seite 96).

Als Tagesdosis an Vitamin B₁₂ werden für Erwachsene von der deutschen Gesellschaft für Ernährung 5 µg empfohlen.

Von Sanddorn (*Hippophaë rhamnoides*) ist bekannt, daß insbesondere die Früchte reich an Vitamin C und anderen Inhaltsstoffen sind. Die wichtigsten Inhaltsstoffe des Sanddorns sind einige Fruchtsäuren, für Obst ungewöhnlich viel Fett, überdurchschnittlich viel Calcium und Magnesium und vor allem Provitamin A und die Vitamine E, B₁, B₂, B₈ und C. Von letzterem werden extrem hohe Werte erreicht, die abhängig vom Standort 200 bis 1300 mg pro 100 g betragen. Sanddorn wird deshalb zur Vitaminisierung von Nähr- und Kräftermitteln, Konserven und Suppenwürzen sowie von Arzneimitteln verwendet (G. Liebster, Warenkunde Obst und Gemüse, Morion-Verlag, 1988, Seite 221 ff).

Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es, ein neues Vitamin B₁₂-haltiges Mittel auf rein pflanzlicher Basis und ein Verfahren zu seiner Herstellung zur Verfügung zu stellen.

Die Aufgabe wird erfindungsgemäß durch Vitamin B₁₂-haltige Sanddornkonzentrate oder -extrakte, sowie Verfahren zu deren Herstellung gelöst. Das Verfahren zur Herstellung des Vitamin B₁₂-

haltigen Sanddornkonzentrats ist dadurch gekennzeichnet, daß man aus Sanddorn die darin enthaltenen flüssigen und/oder flüchtigen Bestandteile abtrennt. Das Verfahren zur Herstellung des Vitamin B₁₂-haltigen Sanddornextrakts ist dadurch gekennzeichnet, daß man Vitamin B₁₂, gegebenenfalls zusammen mit anderen Inhaltsstoffen, in an sich bekannter Weise aus Sanddorn extrahiert.

Erfindungsgemäß können sämtliche Pflanzenteile, d.h. die Früchte, Blätter, Stengel, Wurzeln und Blüten von Sanddorn, eingesetzt werden; insbesondere werden die Sanddornfrüchte verwendet.

Die in Sanddorn enthaltenen flüssigen und/oder flüchtigen Bestandteile, insbesondere Wasser, können aus dem Sanddorn durch übliche Maßnahmen, beispielsweise durch Trocknung mit Luft, insbesondere mit vorgetrockneter Luft, Trocknung durch überkritisches CO₂, Gefriertrocknen, Sprühtrocknen oder Einengen im Vakuum, abgetrennt werden. Das Konzentrierungsverhältnis liegt vorzugsweise im Bereich von 1:1 bis 1:20, insbesondere im Bereich von 1:5 bis 1:15.

Das Vitamin B₁₂ kann, gegebenenfalls zusammen mit anderen Inhaltsstoffen, aus dem Sanddorn mittels üblicher Extraktionsverfahren gewonnen und anschließend vorzugsweise aufkonzentriert werden. Das Aufkonzentrieren kann mittels der vorstehend beschriebenen Verfahren durchgeführt werden, wodurch man vorzugsweise dickflüssige, pastöse, pulverförmige oder kristalline Extrakte erhält. Extraktionsverfahren, die erfindungsgemäß angewendet werden können, umfassen kontinuierliche und diskontinuierliche Verfahren, insbesondere Flüssig-Flüssig-Extraktionsverfahren. Als Lösungsmittel können sowohl anorganische als auch organische, polare und unpolare Lösungsmittel eingesetzt werden, abhängig davon, welche Inhaltsstoffe des Sanddorns außer Vitamin B₁₂ extrahiert werden sollen. Bevorzugte Extraktionsmittel für Vitamin B₁₂ sind aliphatische Kohlenwasserstoffe, insbesondere Hexan, überkritisches CO₂, Wasser und niedere Alkohole mit 1-5 C-Atomen, insbesondere Ethanol. Es ist auch möglich, verschiedene Inhaltsstoffe mit unterschiedlichen Lösungsmitteln zu extrahieren und die Extrakte anschließend zu vereinigen.

Sanddornextrakte werden vorzugsweise durch Ausschütteln, Auslaugen oder Auskochen des Sanddorns oder durch Extraktionsverfahren, wie Gleichstrom-, Gegenstrom- oder Kreuzstrom-Extraktion, sowie durch Tropfen-Gegenstrom-Chromatographie, hergestellt.

Überraschend wurde gefunden, daß Sanddorn neben den oben genannten Vitaminen und Mineralstoffen auch eine hohe Menge an Vitamin B₁₂ enthält. Der Gehalt an Vitamin B₁₂ in Sanddorn wurde mittels kompetitiven Enzymimmunoassay ermittelt. Dieses Bestimmungsverfahren ist in Deutsche Lebensmittel-Rundschau, 86. Jahrgang, Heft 10, 1990, Seite 307-310 beschrieben. Für getrocknete Sanddornbeeren wurde ein Wert 32 µg Vitamin B₁₂/100 g nach diesem Verfahren ermittelt.

Dieser Wert ist vergleichbar mit den Vitamin B₁₂-Gehalten von Schweineleber mit 25-39 µg/100 g und Rinderniere mit 31-33 µg/100 g, während Nahrungsmittel, wie Milch mit etwa 0,4 µg/100 g und Eier mit 2,5-3 µg/100 g, nur eine relativ geringe Menge an Vitamin B₁₂ enthalten.

Sanddorn kann somit erfindungsgemäß erfolgreich zur Behandlung oder Prophylaxe von Vitamin B₁₂-Mangelerkrankungen verwendet werden. Insbesondere eignet er sich zur Behandlung von Neuropathien und/oder Erythropoiesestörungen und/oder zur Stimulation der Nukleinsäuresynthese.

Durch Sanddorn als Vitamin B₁₂-Quelle wird erstmals auch reinen Vegetariern die Möglichkeit gegeben, ihren Vitamin B₁₂-Bedarf aus pflanzlichen Produkten zu decken. Dies betrifft auch Personen, bei denen Unverträglichkeiten mit tierischen Eiweißen zu einer Unterversorgung mit Vitamin B₁₂ führen.

PATENTANSPRÜCHE

1. Vitamin B₁₂-haltige Sanddornkonzentrate oder -extrakte.
2. Verfahren zur Herstellung eines Vitamin B₁₂-haltigen Sanddornkonzentrats, dadurch gekennzeichnet, daß man aus Sanddorn die darin enthaltenen flüssigen und/oder flüchtigen Bestandteile abtrennt.
3. Verfahren nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß man die flüssigen und/oder flüchtigen Bestandteile durch Trocknung mit Luft, Trocknung durch überkritisches CO₂, Gefriertrocknen, Sprühtrocknen oder Einengen im Vakuum abtrennt.
4. Verfahren zur Herstellung eines Vitamin B₁₂-haltigen Sanddornextrakts, dadurch gekennzeichnet, daß man Vitamin B₁₂, gegebenenfalls zusammen mit anderen Inhaltsstoffen, in an sich bekannter Weise aus Sanddorn extrahiert.
5. Verfahren nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß man eine kontinuierliche oder diskontinuierliche Flüssig-Flüssig-Extraktion durchführt.
6. Verfahren nach einem der Ansprüche 2 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß man Sanddornfrüchte als Ausgangsmaterialien einsetzt.
7. Verwendung von Sanddorn zur Prophylaxe oder Behandlung von Vitamin B₁₂-Mangelerkrankungen.
8. Verwendung nach Anspruch 7 zur Behandlung von Neuropathien und/oder Erythropoesestörungen und/oder zur Stimulation der Nukleinsäuresynthese.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP 95/04776

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 6 C07H23/00 A61K31/70 A61K35/78
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 C07H A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	DATABASE WPI Section Ch, Week 8636 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class B04, AN 237593 XP002002868 & SU, A, 1 207 473 (PYATIGOR PHARM. INST.), 30 January 1986 (30.01.86) see the abstract ----	1
A	DATABASE WPI Section Ch, Week 9504 Derwent publications Ltd., London, GB; Class B04, AN 028939 XP002002869 & RU, A, 2 011 383 (PYATIGORSK PHARM. INST.), 30 April 1994 (30.04.94) see the abstract -/--	1



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

13 May 1996 (13.05.96)

Date of mailing of the international search report

30 May 1996 (30.05.96)

Name and mailing address of the ISA/

EUROPEAN PATENT OFFICE

Facsimile No.

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP 95/04776

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	DATABASE WPI Section Ch, Week 9523 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class D23, AN 176630 XP002002870 & RU, A, 2 019 991 (KALININ POLY), 30 September 1994 (30.09.94) see the abstract ---	1
A	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 14, no. 14 (C-674), 12 January 1990 (12.01.90) & JP, A, 01 125748 (SHIRO NAGAI), 13 October 1989 (13.10.89) see the abstract ---	7
A	DATABASE WPI Section Ch, Week 9110 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class B02, AN 069066 XP002002871 & JP, A, 03 017 095 (JAPAN ORGANO KK), 25 January 1991 see the abstract ---	7

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 6 C07H23/00 A61K31/70 A61K35/78

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 6 C07H A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	DATABASE WPI Section Ch, Week 8636 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class B04, AN 237593 XP002002868 & SU,A,1 207 473 (PYATIGOR PHARM. INST.) , 30.Januar 1986 siehe Zusammenfassung ---	1
A	DATABASE WPI Section Ch, Week 9504 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class B04, AN 028939 XP002002869 & RU,A,2 011 383 (PYATIGORSK PHARM. INST.) , 30.April 1994 siehe Zusammenfassung ---	1

-/--



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

13.Mai 1996

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

30. 05. 96

Name und Postanschrift der Internationale Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+ 31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+ 31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Day, G

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	DATABASE WPI Section Ch, Week 9523 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class D23, AN 176630 XP002002870 & RU,A,2 019 991 (KALININ POLY) , 30.September 1994 siehe Zusammenfassung ---	1
A	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 14, no. 14 (C-674), 12.Januar 1990 & JP,A,01 125748 (SHIRO NAGAI), 13.Oktober 1989, siehe Zusammenfassung ---	7
A	DATABASE WPI Section Ch, Week 9110 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class B02, AN 069066 XP002002871 & JP,A,03 017 095 (JAPAN ORGANO KK) , 25.Januar 1991 siehe Zusammenfassung -----	7