(19) DANMARK

(11) **DK 176155 B1**

(12) PATENTSKRIFT

Patent- og
Varemærkestyrelsen

(51) Int.Cl.[8]: ***A 61 K 36/42 (2006.01)*** ***A 61 K 8/97 (2006.01)*** ***A 61 Q 19/00 (2006.01)***
B 01 D 11/02 (2006.01)

(21) Patentansøgning nr: **PA 1993 01377**

(22) Indleveringsdag: **1993-12-09**

(24) Løbedag: **1993-12-09**

(41) Alm. tilgængelig: **1994-06-10**

(45) Patentets meddelelse bkg. den: **2006-10-23**

(30) Prioritet: **1992-12-09 DE 4241487**

(73) Patenthaver: **Indena S.p.A., Via Ripamonti 99, I-20141 Milano, Italien**

(72) Opfinder: **Ezio Bombardelli, Via Val di Sole 22, I-20141 Milano, Italien**

(74) Fuldmægtig: **Zacco Denmark A/S, Hans Bekkevolds Allé 7, 2900 Hellerup, Danmark**

(54) Benævnelse: **Ekstrakter af Cucurbita sp., fremgangsmåde til fremstilling og anvendelse af disse i lægemidler og i kosmetiske præparater**

(56) Fremdragne publikationer:
Ingen

(57) Sammendrag:

Der beskrives en fremgangsmåde til fremstilling af ekstrakter af Cucurbita pepo og sorter heraf, de herved opnåelige ekstrakter og deres anvendelse i farmaceutiske og kosmetiske præparater. Fremgangsmåden omfatter følgende trin:

a) formaling af Cucurbita frø, og hvor det er hensigtsmæssigt,

b) udtrækning af de formalede Cucurbita frø med superkritisk kuldioxid ved en temperatur på fra 34 til 50°C og under et tryk på mellem 110 og 150 bar til fjernelse af uønskede produkter,

c) udtrækning af de aktive stoffer fra formalede Cucurbita frø med kuldioxid under superkritisk betingelser eller med organiske opløsningsmidler, og

d) oprensning af det resulterende ekstrakt ved fraktioneret modstrømsekstraktion med kuldioxid under superkritiske betingelser.

Ekstrakterne anvendes til behandling af godartet prostatahypertrofi og beslægtede kliniske manifestationer. Ekstrakterne benyttes i kosmetiske præparater til behandling af juvenilakne og som antiseborrhoemiddel.

fortsættes

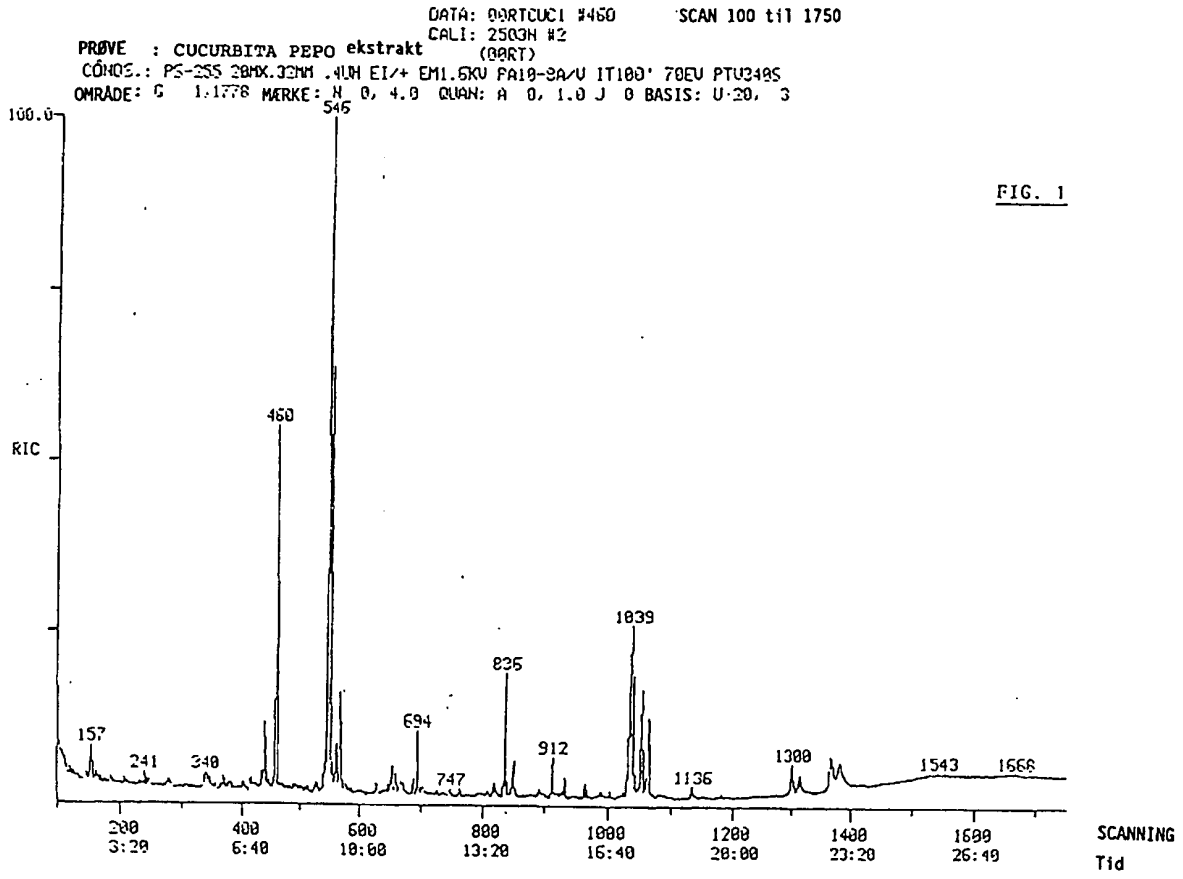
DATA: 00RTCUC1 #460 SCAN 100 til 1750
CALI: 2503H #2
PRØVE : CUCURBITA PEPO ekstrakt (00RT)
OMRÅDE: G 1.1778 MÆRKE: N 0, 4.0 QUAN: A 0, 1.0 J 0 BASIS: U·20, 3
100.0
RIC
546
460
1039
835
694
912
157
241
340
747
1136
1300
1543
1668
200 3:20
400 6:40
600 10:00
800 13:20
1000 16:40
1200 20:00
1400 23:20
1600 26:40
SCANNING
Tid

FIG. 1

Den foreliggende opfindelse angår fremstillingen af ekstrakter af Cuburbita pepo frø (såsom Cucurbita maxima, Cucurbita moscata, Cucurbita citrullina og andre arter), de herved opnåede ekstrakter og anvendelsen af disse ved fremstillingen af farmaceutiske og kosmetiske præparater som angivet i patentkravene.

Fremstillingsmåden omfatter anvendelsen af en kombination af udvalgte opløsningsmidler til koncentrering af de aktive stoffer og fjernelse af uønskede og toksiske bestanddele, navnlig allergene stoffer.

Derudover er ansøger bekendt med følgende skrifter:

LIST, Heinz: "Technologie pflanzlicher Arzneizubereitungen."
Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart 1984, siderne 89-91, 116-117, 159-161, 171-173, som beskriver ekstraktionssystemer, herunder ekstraktion med superkritisk gas.

VOGEL, P.: "Untersuchungen über Kürbiskernöl."
Fette, Seifen, Anstrichmittel, bind 80, nr. 8, 1978, siderne 315-317, navnlig side 315, anden spalte, andensidste afsnit, der beskriver sammensætningen af græskarkerneolie.

N.N.: "Hochdruck-Extraktion von Naturstoffen mit CO_2."
Seifen, Öle, Fette, Wachse, bind 112, nr. 7, 1986, siderne 218-220, som beskriver ekstraktionen af naturprodukter, olier og naturlige fedtstoffer med superkritisk CO_2.

BORK, Michael: "Die Hochdruckextraktion mit CO_2 zur Gewinnung natürlicher Extrakte."

Seifen, Öle, Fette, Wachse, bind 116, nr. 16, 1990, siderne 655-658, der beskriver anvendelsen af superkritisk CO_2-ekstraktion til fremstilling af naturprodukter.

WILP, Ch; EGGERS, R.: "Hochdruckextraktion mit mehrstufinger fraktionierender Separation zur schonenden Gewinnung von Keimölen mit hochverdichtetem Kohlendioxid.
Fat. Sci. Technol., bind 93, nr. 9, siderne 348-354, som beskriver CO_2-superkritisk ekstraktion af majsspirer.

Rote Liste 1992, nr. 81122, der beskriver sammensætningen af det medicinske produkt Prosta Fink, der også indeholder pulveriserede frø og olie af Curcurbita.

FR patent nr. 26 73 375, som beskriver anvendelsen af cucurbitin, enten i ren form eller indeholdt i Cucurbita-ekstrakter, inden for det kosmetiske og farmaceutiske område som antiallergent middel.

LIST, SCHMIDT: Technologie pflanzlicher Arzneizubereitungen, wbg Stuttgart, 1984, side 161 til 170, der detaljeret beskriver ekstraktionsteorien med superkritisk gas.

EP patent nr. 129.739 B1, som beskriver fremgangsmåde og udstyr til opnåelse af plantefedt og –olier med superkritisk gas.

Ifølge teknikkens stade (Cucurbita Species, Portrait einer Arzneipflanze (Cucurbita species, portrait of a medical plant), Zeitschrift für Phytotherapie, 7, 19-23, 1986) anvendes frø af Cucurbita-arten som sådanne eller i form af ekstraker til behandling af dysuri forbundet med godartet prostatahypertrofi. Skønt sundhedsmyndighederne i forskellige lande har godkendt anvendelsen af Cucurbita-produkter på basis af empiriske data, er disse produkters effek-

tivitet indtil nu ikke blevet påvist videnskabeligt, og der eksisterer en vis usikkerhed med hensyn til den terapeutiske værdi af de kendte ekstrakter, som hidtil er blevet opnået fra frø af disse planter.

Farmakologiske og kliniske data, der henviser hertil, er temmelig forskelligartede, fordi de i stor udstrækning er blevet opnået ved ukontrollerede forsøg under anvendelse af produkter af uvis oprindelse hvad angår de udvalgte botaniske arter. Hvad angår kemisk sammensætning indeholder Cucurbita pepo frøene og heraf afledte sorter fedtstoffer i en andel på fra 35 til 45 %, normalt 42 %, i form af en ikke defineret olie, som kan anvendes som sådan til forskellige terapeutiske formål, steroler på fri og glucosid form (Kneipp-Physiotherapie 5, 2-7, 1985) og en betydelig mængde af terapeutisk vigtige oligobestanddele, såsom selen og zink (Dtsch. Lebensm. Rundsch., 78, 39, 1982).

Den farmakologisk screening af Cucurbita pepo ekstrakterne, som er blevet udført af ansøger, viser, at sterolfraktionen med sine frie og glycoside bestanddele sammen med de frie fedtsyrer, som forekommer i ekstrakterne, udgør en af de bestanddele, som er virksomme mod prostatalidelser (jf. virkningsmekanismen heraf som nedenfor beskrevet). Glycerider af fedtsyrer (diglycerider og monoglycerider), langkædede alkoholer og procarotenoider, som er blevet oprenset ved fjernelse af værdiløse og interfererende stoffer, bidrager til at forstærke virkningen af de frie steroler og deres glucosider. De hidtil ukendte ekstrakter fremstillet ifølge den foreliggende opfindelse har en aktivitet, som er et multiplum af de ved de traditionelle fremgangsmåder (solventekstraktion, udpresning etc.) fremstillede produkters.

Ved den foreliggende opfindelse tilvejebringes følgelig en fremgangsmåde til fremstilling af et ekstrakt fra frø af Cucurbita-arter, der er ejendommelig ved, at fremgangsmåden omfatter følgende trin:

a) formaling af Cucurbita-frø ved en temperatur på mellem -10 og +2 °C til en partikelstørrelse på mellem 0,1 og 1 mm,

b1) ekstraktion af de formalede Cucurbita-frø med kuldioxid under superkritiske betingelser ved en temperatur på mellem 34 og 50 °C og ved et tryk på mellem 110 og 150 bar for at fjerne uønskede produkter og en efterfølgende ekstraktion af de aktive stoffer med kuldioxid under superkritiske betingelser ved et tryk på mellem 250 og 330 bar og en temperatur på mellem 34 og 65 °C, eller

b2) ekstraktion af de aktive stoffer med chlorerede, alifatiske opløsningsmidler, acetone eller alifatiske alkoholer ved en temperatur på mellem 25 °C og opløsningsmidlets kogepunkt, og

c) rensning af det opnåede ekstrakt ved hjælp af fraktioneret modstrømsekstraktion med kuldioxid under superkritiske betingelser ved en temperatur på mellem 34 og 80 °C og ved et tryk på mellem 110 og 180 bar.

Fremgangsmåden ifølge opfindelsen omfatter et første trin (a), nemlig formaling af Cucurbita pepo frø. Dette trin (a) udføres fortrinsvis ved intensiv formaling af Cucurbita frøene ved temperaturer på mellem -10 °C og +10 °C, fortrinsvis mellem -7 °C og +2 °C, navnlig ved -5 °C, under en inert gasatmosfære (fortrinsvis kuldioxidatmosfære). Dette trin tager fortrinsvis udgangspunkt i hele og afskallede frø. Cucurbita frøenes partikelstørrelse, som formales på denne måde, er hensigtsmæssig mellem 0,1 og 1 mm, fortrinsvis mellem 0,3 og 0,5 mm. Om ønsket tørres frøene før formaling. Tørringen af frøene foretages fortrinsvis i en tørrer med tvungen gennemluftning ved en temperatur mellem 30 og 60 °C, fortrinsvis mellem 35 og 55 °C. Vandindholdet efter tørring bør fortrinsvis være mindre end 10%, navnlig fortrinsvis omkring 5%.

Fremgangsmåden ifølge opfindelsen omfatter, hvor det er passende, et andet trin (b1), nemlig en for-ekstraktion med superkritisk kuldioxid til fjernelse af uønskede bestanddele og til koncentrering af de aktive stoffer. Til dette formål udtrækkes det i trin (a) formalede materiale med superkritisk kuldioxid ved en temperatur fra 34 til 50 °C, fortrinsvis mellem 35 og 45 °C, og under et tryk på mellem 110 og 150 bar, fortrinsvis mellem 115 og 130 bar. En ekstraktion af denne type er i stand til at fjerne uønskede produkter med lav molekylvægt. Ekstrakterne, der opnås under de angivne betingelser (34 til 50 °C og 110 til 150 bar), og som udgør mellem 22 og 35% (25%) af frøenes vægt, kasseres normalt.

Denne for-ekstraktion (b1), som finder sted, når det er hensigstmæssigt, efterfølges i næste trin af den egentlige ekstraktion (c) af de aktive stoffer, og dette kan ske på forskellig vis. I en første variant udføres ekstraktionen med superkritisk kuldioxid under et tryk på mellem 250 og 330 bar, fortrinsvis mellem 270 og 310 bar, og ved en temperatur på mellem 34 og 65 °C, fortrinsvis mellem 40 og 50 °C. Ekstraktionen er normalt tilendebragt efter 2 til 6 timer, fortrinsvis 3 til 5 timer. Strømningshastigheden afhænger af ekstraktionsapparatet og er fortrinsvis mellem 7 og 12 kg pr. kilo plantemateriale.

Plantematerialet, som er blevet underkastet trin (a), og hvor det er hensigtsmæssigt også trin (b2), ekstraheres grundigt i en anden variant af ekstraktionstrinnet, (hvor ekstraktion ikke udføres med superkritisk kuldioxid) med et organisk opløsningsmiddel, såsom chlorerede alifatiske opløsningsmidler, f.eks. chloroform, methylenchlorid, dichlorethan eller med acetone eller alifatiske alkoholer, såsom methanol, ethanol etc, fortrinsvis med methylenchlorid. Til dette formål er methylenchlorid det mest egnede opløsningsmiddel. Ekstraktionen foretages fortrinsvis ved temperaturer på mellem 25 °C og opløsningsmidlets kogepunkt. Plantematerialets ekstraktion med disse chlorerede alifatiske opløsningsmidler, acetone eller alifatiske alkoholer foregår fortrinsvis under anvendelse af en samlet mængde på 16 voluminer opløs-

ningsmiddel pr. kg plantemateriale. Der foretages fortrinsvis 4 udtrækninger, der hver varer 3 timer.

Det efter trin (b) opnåede ekstrakt kan, navnlig når ekstraktet er blevet opnået under anvendelse af en af ovennævnte chlorerede alifatiske opløsningsmidler, acetone eller alifatiske alkoholer, underkastes en behandling med en adsorbent, såsom aktivt trækul eller diatoméjord.

De ved ekstraktion opnåede ekstrakter underkastes i det efterfølgende trin (c) en modstrømsekstraktion med CO_2 under superkritiske betingelser (fortrinsvis under anvendelse af den nedenfor beskrevne kolonne). Trinnet (c) tjener til oprensning af ekstraktet.

Den separationskolonne, der normalt skal anvendes til de superkritiske CO_2-gasser, er fortrinsvis et langt rør, som er inddelt i 3 til 5 segmenter, fortrinsvis 3 segmenter, og hvori temperaturen kan ændres. Det fra ekstraktion opnåede produkt indføres i kolonnen ved bunden eller i en af de nedre segmenter ved hjælp af en pumpe under samme tryk som kolonnens. Den indsprøjtede væske bevæger sig i modstrøm med superkritisk CO_2. Trykket inden i kolonnen må holdes konstant. Det ønskede ekstrakt forbliver ved bunden, hvorimod de bestanddele, der skal fjernes, afstrippes ved destillation.

Det foretrukne trykområde i kolonnen ligger på mellem 110 0g 180 bar, navnlig mellem 130 og 160 bar. Temperaturen kan variere mellem 34 og 80, fortrinsvis mellem 34 og 65, navnlig mellem 40 og 60 °C. Der anvendes fortrinsvis en kolonne med en højde på 3 meter og en diameter på 5 cm. På denne måde er det muligt at fraktionere 2 kg olie pr. time. Fraktionerne opsamles altid ved den øvre ende af kolonnen. Uønskede og/eller potentielt toksiske bestanddele kan fjernes ved denne modstrømsekstraktion.

Temperaturer på mellem 34 og 80 °C, fortrinsvis fra 45 til 50 °C, og tryk på mellem 120 og 180 bar, fortrinsvis 130 bar, har vist sig at være de driftsbetingelser, som er mest egnede til modstrømsekstraktion af ekstraktet.

Ved hjælp af fremgangsmåden ifølge opfindelsen er det muligt at opnå et hidtil ukendt ekstrakt, som indeholder omkring 0,2 til 0,5% steroler, 0,8 til 2% ikke-forsæbelig rest og 82 til 94% fedtsyrer, og som har et forsæbningstal på 170 til 190, et jodtal på 114 til 120 og et brydningsindeks på 1,45 til 1,48. Produktet har fortrinsvis et syretal på 10 til 15 og en relativ vægtfylde på 0,9 til 0,92 (ved 25 °C). Et karakteristisk "fingeraftryk" af et ekstrakt opnået ved GLC-MS (gasvæskekromatografi/massespektrometri) er vist i fig. 1, og FT-IR spektret (Fourier transformeret IR spektrum) er vist i fig. 2. Figurerne 3 og 4 viser særlige områder af fig. 2.

Den foreliggende opfindelse angår følgelig også ekstrakter fra frø af Cucurbita-arter, der er ejendommelige ved, at de er fremstillet som beskrevet i det foregående.

Det har overraskende vist sig, at disse hidtil ukendte ekstrakter fremstillet ifølge opfindelsen i farmakologiske og kliniske afprøvninger udviser en højere aktivitet end de kendte ekstrakter, der er fremstillet uden fraktionering og anvendt ifølge teknikkens stade. In vitro afprøvninger udført på kulturer af humanprostatafibroblaster viste, at ekstrakterne ifølge opfindelsen modvirker, at dihydrotestosteron bindes til dets specifikke receptorer i et omfang på 58 % (cytosoliske prostatinreceptorer), hvorimod det kendte færdige olieagtige ekstrakt fremstillet ved n-hexan ekstraktion modvirker bindingen i et omfang på blot 10% på en ikke-signifikant måde. Denne virkning fører til en mekanisme, hvorved ekstrakterne inhiberer den cellulære hyperplasi, som udgør det patogene grundlag for godartet prostatahypertrofi. Ekstrakterne inhiberer også in vitro aktiviteten af prostatin-5-alpha-reductase, dvs. det enzym, som katalyserer omdannelsen af testosteron til dihydrotestosteron, og opfindelsens

ene aspekt er baseret herpå. Denne virkning resulterer i en antagonisme mod den overskydende produktion af denne androgene metabolit, som er kendt for at have en stimulerende virkning på celledelingen i kirtelvævet. IC_{50} af ekstrakterne er ca. 128 ± 25 µg/ml, hvorimod det ovenfor nævnte kendte komplette ekstrakt viste sig at være inaktivt.

I kastrerede rotter, som lige var blevet vænnet fra, udviste ekstrakterne af Cucurbita-arter en statistisk signifikant antagonisme in vivo over for virkningen af testosteron, der blev indgivet samtidigt med det aktive stof. Ekstrakterne ifølge opfindelsen udviser en antiprostaglandin aktivitet, der fører til en antiinflammatorisk virkning, som er af terapeutisk værdi ved behandlingen af prostatiske og prostatolidelser, som normalt er forbundet med godartet prostatahypertrofi. Virkningsmekanismen for ekstraktet ifølge opfindelsen er ny og udgør et af opfindelsens aspekter.

Den foreliggende opfindelse omfatter følgelig også et farmaceutisk præparat, der er ejendommeligt ved, at det omfatter et ekstrakt, som beskrevet i det foregående som aktivt stof.

Endvidere omfatter opfindelsen anvendelsen af et ekstrakt som beskrevet i det foregående til fremstilling af et præparat til behandling af juvenilakne og seborrhoe.

Ekstrakterne ifølge opfindelsen kan således navnlig anvendes til behandling af patologiske manifestationer, som er forbundet med godartet prostatahypertrofi. Deres anvendelsesområde består derfor navnlig i behandling af godartet prostatahypertrofi og beslægtede kliniske manifestationer, såsom prostatitis og urinvejsforstyrrelser.

I farmakotoksikologisk henseende udviser ekstrakterne ifølge opfindelsen en akut toksicitet i rotter og mus ved doser, som er større end 3000 mg pr. kg,

hvorimod de ekstraktdoser, som frembringer farmakodynamiske virkninger, ligger i området mellem 20 og 200 mg pr. kg.

Ved klinisk brug har det vist sig, at ekstrakterne ifølge opfindelsen formindsker dysuri og vandladningshyppigheden betydeligt i løbet af dagen og om natten ved daglige doser på mellem 100 og 1000 mg. Resturinmængden formindskes med ca. 70%. Efter behandling i 6 måneder med en dosis på 400 mg pr. dag fordelt på to daglige indgivelser førte ekstrakterne til en statistisk signifikant formindskelse af prostatakirtlens størrelse på ca. 25%.

Ekstrakterne ifølge opfindelsen kan indføres i farmaceutiske formulationer, såsom bløde eller hårde gelatinekapsler, tabletter, suppositorier etc. Den foretrukne farmaceutiske formulering er bløde gelatinekapsler.

Præparater fremstillet ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen indgives fortrinsvis i en daglig dosis på 10 til 500 mg ekstrakt, navnlig 250 mg ekstrakt. Indgivelsen af den daglige dosis foretages fortrinsvis fordelt på to doser, f.eks. om morgenen og aftenen.

Ekstrakterne ifølge den foreliggende opfindelse er også egnede til behandling af hudsygdomme, som er forbundet med androgent stofskifte, såsom akne, navnlig juvenilakne, og seborrhoe, og anvendes derfor også i kosmetiske præparater. I dette tilfælde indføres ekstrakterne i standardformuleringer, såsom vand/olie og olie/vandemulsioner, rensemælksprodukter og sæber. De anbefalede koncentrationer til tilstrækkelig kosmetisk virkning ligger i området mellem 0,1 og 2%

Den foreliggende opfindelse angår følgelig også et kosmetisk præparat, der er ejendommeligt ved, at det indeholder et ekstrakt som omtalt i det foregående som aktiv bestanddel.

Desuden angår opfindelsen anvendelsen af et ekstrakt som omtalt i det foregående til fremstilling af et præparat til behandling af juvenilakne og seborrhoe.

De efterfølgende eksempler illustrerer opfindelsen nærmere.

Eksempel 1

Fremstilling af et oprenset lipofilt ekstrakt af Cucurbita pepo (Moscata sort).

De afskallede Cucurbita pepo frø (Moscata sort) (50 kg) formales fint under anvendelse af en mølle, der er afkølet til -5 °C, og udtrækkes med kuldioxid under superkritiske betingelser ved en temperatur på 35 °C og under et tryk på 130 bar i 3 timer. Ekstraktionsapparatet er forbundet til 2 separatorer, hvor betingelserne i den første er 95 bar og 35 °C og i den anden 60 bar og 45 °C. Dette resulterer i en fjernelse af 15 kg stråfarvet olie, som kasseres på grund af dens ringe aktivitet. Derefter udtrækkes plantematerialet, der bliver tilbage som rest, tre gange med 80 ml methylenchlorid, hver gang ved stuetemperatur og under nitrogenatmosfære. De kombinerede methylenchloridekstrakter koncentreres i vakuum, indtil opløsningsmidlet er fuldstændigt fjernet. Den tilbageblivende olie (7,8 kg), som har en grønlig farve, underkastes modstrømsekstraktion med kuldioxid under superkritiske betingelser ved anvendelse af en kolonne med tre trin, der virker ved forskellige temperaturer (50 °C foroven, 40 °C i midten og 34 °C forneden) og under tryk (på 150 bar). Seperationsbetingelserne for den biologisk aktive fraktion er 50 °C og 150 bar. Den destillerede fraktion kasseres på grund af sin ringe aktivitet, hvorimod det tilbageblivende produkt opsamles i kolonnen og udgør den aktive fraktion.

Den olieagtige fraktion har følgende karakteristika: en samlet mængde steroler på 0,38% bestemt ved gas-væskekromatografi og udtrykt som β-

sitosterol, 92,84% fedtsyrer (efter forsæbning), 1,04% ikke-forsæbelig rest. Olien har et forsæbningstal på 189,5, et jodtal på 119, et brydningsindeks på 1,4645, et syretal på 11,9 og en relativ vægtfylde på 0,912. GLC-profilen er afbildet i fig. 1.

Eksempel 2

Fremstilling af et oprenset lipofilt ekstrakt af Cucurbita pepo (Moscata sort).

De afskallede Cucurbita pepo frø (Moscata sort) (50 kg) formales fint under anvendelse af en mølle, der er afkøet til – 5 °C, og udtrækkes med methylenclorid ved en temperatur på 35 °C under nitrogenatmosfære. Der foretages fire udtrækninger med 80 l methylenclorid hver gang. De opsamlede methylenchloridekstrakter behandles med 0,5 kg vegetabilsk aktivt trækul og 2 kg celit ved omrøring under forsigtig tilbagesvaling til fjernelse af uklarheden. Efter afkøling filtreres suspensionen, og opløsningsmidlet fjernes i vakuum. Dette resulterer i udskillelse af 22, 5 kg af en grønlig olie, som fraktioneres ved modstrømsekstraktion i en kolonne med kuldioxid under superkritiske betingelser. Driftsbetingelserne er som følger: Kolonnen sættes under et tryk på 160 bar med et fald i temperatur fra top til bund (50 °C ved toppen, 40 °C i midten og 34 °C ved bunden). Det biologisk aktive produkt fraktioneres ved en temperatur på 50 °C. Anvendelsen af denne fremgangsmåde giver 6,2 kg af en rødgul olie. Olien har følgende karakteristika: en samlet mængde steroler på 0,26% og 90,45% fedtsyrer (efter forsæbning). Olien har et forsæbningstal på 184,6, et jodtal på 119, et brydningsindeks på 1,4745, et syretal på 11,9 og en relativ vægtfylde på 0,914. Gas-væske-kromatogramprofilen stemmer i alt væsentligt overens med den i eksempel 1 tidligere angivne.

Eksempel 3

Fremstilling af et oprenset lipofilt ekstrakt af Cucurbita pepo (Moscata sort).

De afskallede Cucurbita pepo frø (Moscata variant) (50 kg) formales fint under anvendelse af en mølle, der er afkølet til -5 °C, og udtrækkes med kuldioxid under superkritiske betingelser ved en temperatur på 35 °C og under et tryk på 120 bar i 3½ time. Dette resulterer i en fjernelse af 15 kg stråfarvet olie, som kasseres på grund af sin ringe aktivitet. Derefter udtrækkes det tilbageblivende plantemateriale ved 45 °C og 300 bar i 3½ time, hvorunder temperaturen og trykket i de to tilsluttede separatorer holdes på 40 °C og 90 bar henholdsvis 60 °C og 50 bar, hvorhos kuldioxidet recirkuleres, indtil det er fuldstændig opbrugt. Anvendelsen af denne fremgangsmåde resulterer i 6,2 kg grønlig olie. Olien oprenses ved modstrømsekstraktion under superkritiske betingelser i overensstemmelse med de i eksempel 2 angivne parametre. Der opnåes 6,1 kg rødlig olie. Olien har følgende karakteristika: en samlet mængde steroler på 0,24% og 91,54% fedtsyrer (efter forsæbning). Olien har et forsæbningstal på 182,9, et jodtal på 118,4, et brydningsindeks på 1,4739, et syretal på 12,1 og en relativ vægtfylde på 0,911. Gas-væske-kromatogramprofilen stemmer i det væsentlige overens med den i eksempel 1 tidligere angivne.

Eksempel 4

Fremstilling af bløde gelatinekapsler, som indeholder 160 mg oprenset Cucurbita olieekstrakt.

Hver af de bløde gelatinekapsler indeholder:

Aktiv bestanddel

Oprenset Cucurbita pepo fraktion fremstillet ifølge

5	Eksempel 1	160 mg

Kapselskallens bestanddele

	Gelatine	84 mg
10	Glycerol	32 mg
	Ethyl-p-hydroxybenzoat	0,4 mg
	Titandioxid E 171	0,8 mg

Patentkrav:

1. Fremgangsmåde til fremstilling af et ekstrakt fra frø af Cucurbita-arter, kendetegnet ved, at fremgangsmåden omfatter følgende trin:

a) formaling af Cucurbita-frø ved en temperatur på mellem -10 og +2 °C til en partikelstørrelse på mellem 0,1 og 1 mm,

b1) ekstraktion af de formalede Cucurbita-frø med kuldioxid under superkritiske betingelser ved en temperatur på mellem 34 og 50 °C og ved et tryk på mellem 110 og 150 bar for at fjerne uønskede produkter og en efterfølgende ekstraktion af de aktive stoffer med kuldioxid under superkritiske betingelser ved et tryk på mellem 250 og 330 bar og en temperatur på mellem 34 og 65 °C, eller

b2) ekstraktion af de aktive stoffer med chlorerede, alifatiske opløsningsmidler, acetone eller alifatiske alkoholer ved en temperatur på mellem 25 °C og opløsningsmidlets kogepunkt, og

c) rensning af det opnåede ekstrakt ved hjælp af fraktioneret modstrømsekstraktion med kuldioxid under superkritiske betingelser ved en temperatur på mellem 34 og 80 °C og ved et tryk på mellem 110 og 180 bar.

2. Fremgangsmåde ifølge krav 1, kendetegnet ved, at ekstraktionen b1) af de aktive stoffer gennemføres med kuldioxid under superkritiske betingelser ved et tryk på mellem 270 og 310 bar og en temperatur på mellem 40 og 50 °C.

3. Fremgangsmåde ifølge krav 1, kendetegnet ved, at de formalede Cucurbita-frø ekstraheres med kuldioxid under superkritiske betingelser ved

en temperatur på mellem 34 og 50 °C og ved et tryk på mellem 110 og 150 bar, før ekstraktionen b2) for at fjerne uønskede produkter.

4. Ekstrakt, der er opnåeligt ved fremgangsmåden ifølge et hvilket som helst af kravene 1-3.

5. Farmaceutisk præparat indeholdende et ekstrakt ifølge krav 4 som aktiv bestanddel.

6. Kosmetisk præparat indeholdende et ekstrakt ifølge krav 4 som aktiv bestanddel.

7. Anvendelse af et ekstrakt ifølge krav 4 til fremstilling af et præparat til behandling af komplikationer forårsaget af godartet prostatahypertrofi.

8. Anvendelse af et ekstrakt ifølge krav 4 til fremstilling af et præparat til behandling af juvenilakne og seborrhoe.

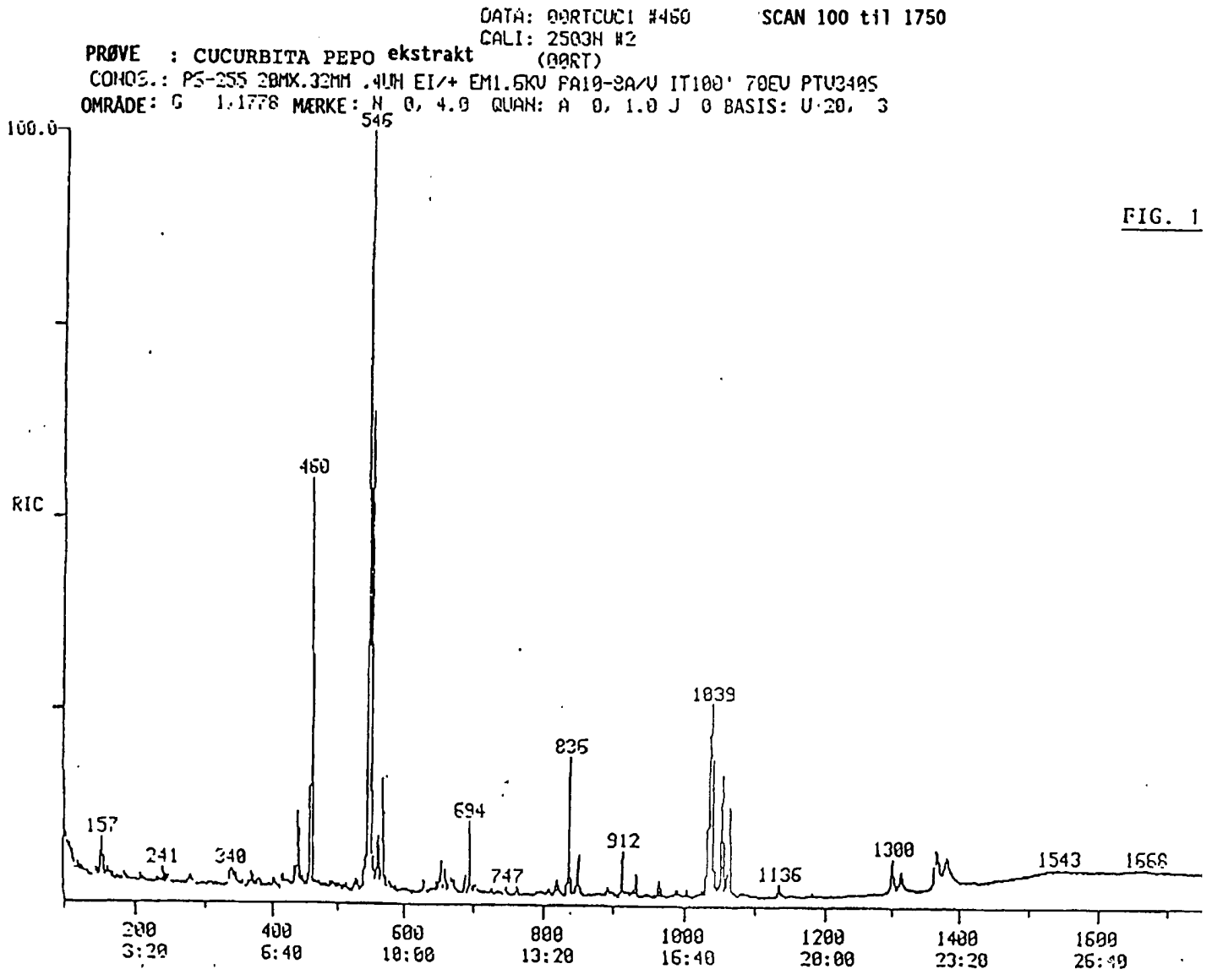

FIG. 1

DK 176155 B1

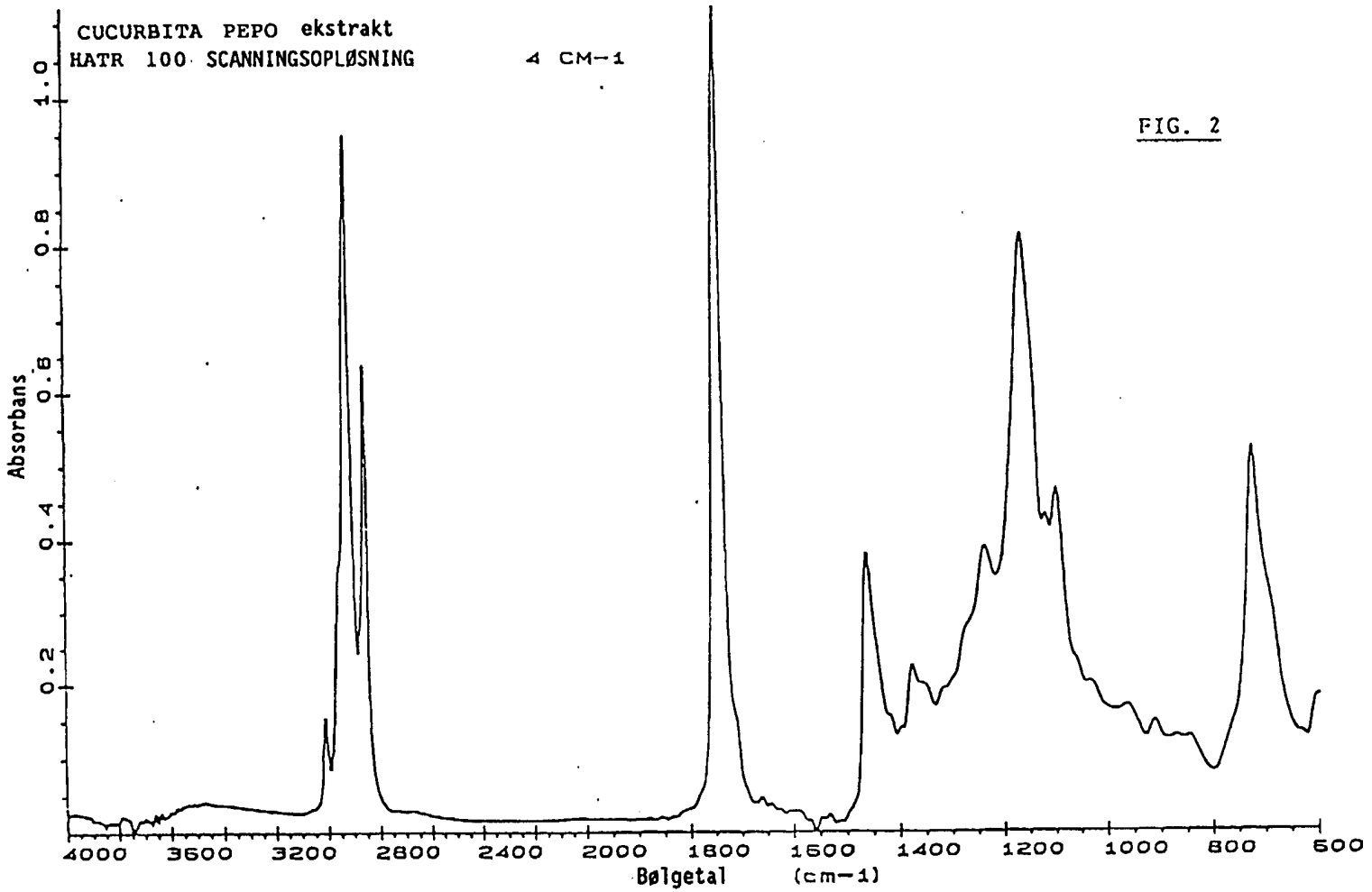

FIG. 2

DK 176155 B1

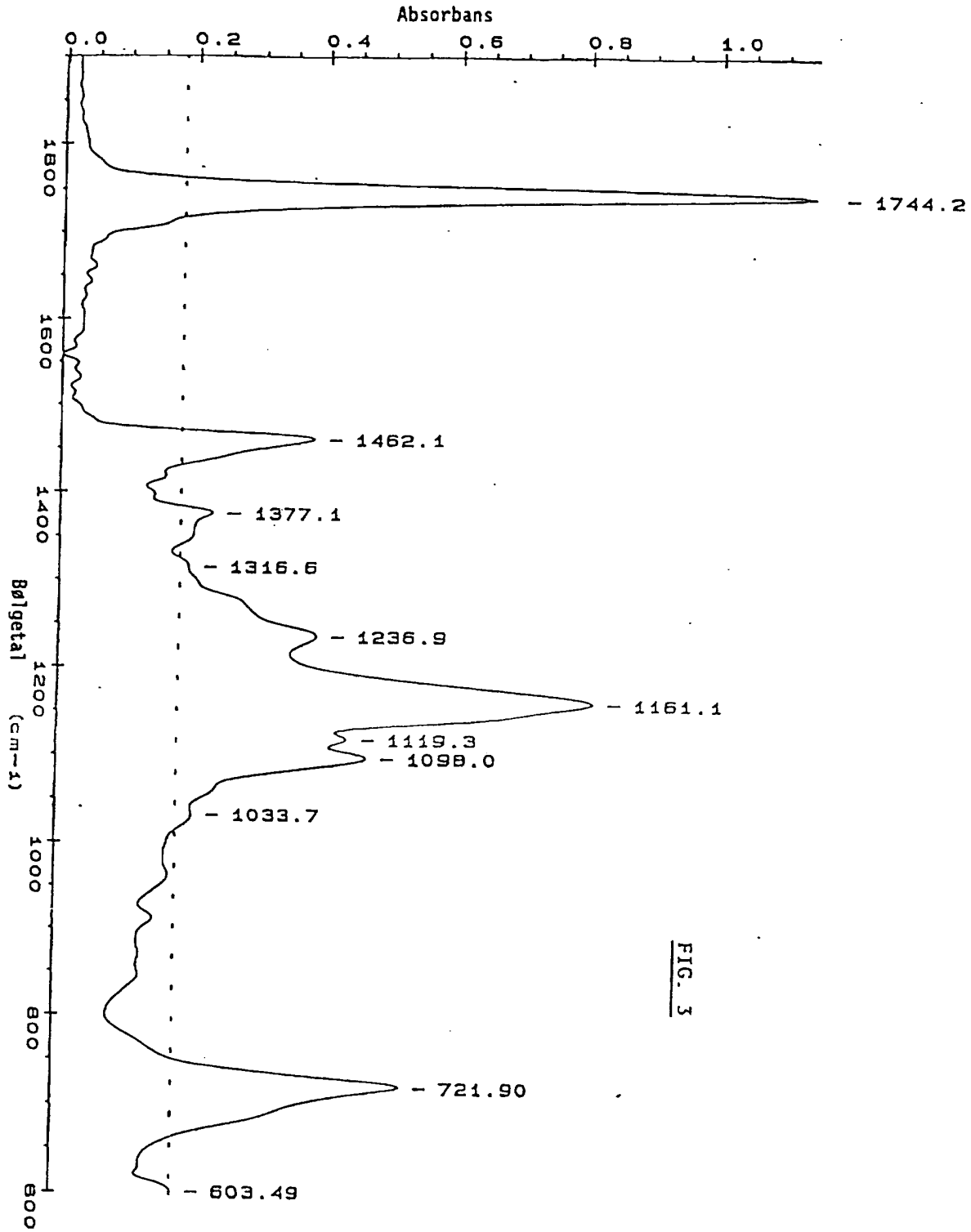
Absorbans
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
Bølgetal (cm-1)
- 1744.2
- 1462.1
- 1377.1
- 1316.6
- 1236.9
- 1161.1
- 1119.3
- 1098.0
- 1033.7
- 721.90
- 603.49

FIG. 3

2923.6
2854.3
2953.6
3009.1
Absorbans
0.8
0.6
0.4
0.2
3200
3150
3100
3050
3000
2950
2900
2850
2800
2750
2700
2650
2600
Bølgetal (cm-1)

FIG. 4