



No. 07-105205- -00005-0000

Fecha: 2011-06-03 15:33:39 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALI
Act. 523 RESPUESTA Folios: 23

Clarke, Modet & Cº

COLOMBIA

P-1009

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

E. S. D.

Re: Expediente No. 07-105205

Solicitud de patente a nombre de **DR. WILLMAR SCHWABE GMBH**

Yo, DILIA MARIA RODRIGUEZ D'ALEMAN identificada como aparece al pie de mi firma, domiciliada en la carrera 11 A No. 86-53, piso 6, obrando como apoderada de la sociedad **DR. WILLMAR SCHWABE GMBH**, domiciliada en Karlsruhe, Alemania, solicitante de la patente de la referencia, en respuesta al oficio No. 04555 notificado por fijación en lista el 11 de marzo de 2011, relacionado con el concepto técnico de fondo No. 525, me permito manifestar lo siguiente:

1. Con fundamento en la facultad que confiere el artículo 34 de la Decisión 486 al solicitante para modificar la solicitud de patente en cualquier momento del trámite, presento junto con este memorial nueva memoria descriptiva y capítulo reivindicatorio que consta de 13 reivindicaciones dirigidas al *método de multipasos para preparar extractos de ginkgo biloba que tienen un contenido bajo de 4'-o-metil piridoxina y/o biflavonas*.

En la solicitud se realizaron las siguientes modificaciones:

Descripción:

- o Se modificó el título para que quede del siguiente tenor: "*Método de multipasos para preparar extractos de ginkgo biloba que tienen un contenido bajo de 4'-o-metil piridoxina y/o biflavonas*".
- o Se introdujo la materia objeto de las reivindicaciones 10 a 12 en la nueva página 7 de la descripción, de acuerdo con la amable sugerencia del señor examinador.

No obstante lo anterior, es deseo del señor Solicitante dirigir la atención del señor examinador al hecho que las reivindicaciones 10 a 12 se encuentra sustentadas por los datos proporcionados en la tabla 1 en la nueva página 13 de la descripción.

Reivindicaciones

- Se canceló dentro de la reivindicación 1 la expresión “*que tiene un contenido reducido de 4'-O-metil piridoxina y/o biflavonas*”.
- Se canceló la antigua reivindicación 13 que hacía referencia al uso del extracto de la invención.

Sobre este particular nos permitimos manifestar que las anteriores modificaciones no involucran ampliación alguna de la materia originalmente presentada y se dan como respuesta a las objeciones expuestas por el señor examinador en su concepto técnico No. 525.

Teniendo en cuenta el concepto técnico emitido por el Señor Superintendente Delegado para la propiedad intelectual GianCarlo Marcenaro Jiménez a la doctora Ana Maria Castro Wey, que da alcance a las comunicaciones No. 09-001524 y 09-012566, no se presenta una tasa adicional, toda vez que la solicitud fue presentada con anterioridad al 1 de enero de 2009.

2. Reivindicaciones relativas a un uso

En relación con la antigua reivindicación 1, amablemente nos permitimos decir que con la cancelación de la misma queda cabalmente atendida la objeción del señor examinador.

3. Claridad de la solicitud

En cuanto a la claridad de las reivindicaciones 1 a 5, respetuosamente nos permitimos manifestar que dichas reivindicaciones no están haciendo referencia a un resultado a alcanzar y se encuentran definidas claramente por el proceso en sí mismo. No obstante, con el ánimo de agilizar el proceso de evaluación de los requisitos de patentabilidad de la presente invención, es deseo del solicitante, cancelar del preámbulo de la reivindicación principal 1 la expresión “*que tiene un contenido reducido de 4'-O-metil piridoxina y/o biflavonas*” con el ánimo de que dicha expresión no confunda el verdadero alcance de las reivindicaciones 1 a 5.

El señor examinador indica en el folio 96 que “*Las reivindicaciones 1 – 5 no son concisas, porque presentan una excesiva complejidad, lo cual dificulta determinar la extensión del objeto que se busca proteger.*”

Sobre este particular, respetuosamente nos permitimos decir que no nos encontramos de acuerdo con esta apreciación, toda vez que el proceso reclamado es un proceso de multipasos y por lo tanto, es necesario especificar todas las etapas en el proceso reclamado. Aún más, las reivindicaciones son claras para una persona versada en la materia, la cual entenderá que el proceso se encuentra claramente definido por una secuencia de etapas en donde las condiciones principales se encuentran debidamente reportadas.

Respecto a que la descripción no hacía mención a la presencia de flavonoides seleccionados del grupo de quercetina y demás, siguiendo las amables sugerencias del examinador se incorporó en la descripción la materia objeto de las reivindicaciones 10 a 12, con lo cual queda cabalmente atendida y superada esta objeción.

En conexión con la solicitud del señor examinador para definir las marcas Amberlita IR-120, Merck, Diaion HP-20 y HP-21, Sepabeads SP-207 y SP-850, respetuosamente nos permitimos decir que las dos primeras (Amberlita IR-120 y Merck 1 son resinas de intercambio catiónico fuertemente ácidas del tipo poliestireno sulfonado y que las restantes, como aparece en la nueva página 5, último párrafo de la nueva descripción, se definen como resinas basadas en estirenos/divinilbencenos opcionalmente sustituidos y que poseen una actividad fuerte como resinas de intercambio iónico.

Por lo cual, respetuosamente nos permitimos decir que tales términos se encuentran debidamente definidos en la descripción y los mismos son claros para una persona versada en la materia que lleve a cabo la presente invención.

4. Nivel inventivo

El señor examinador objeta la altura inventiva de las nuevas reivindicaciones 1 a 13 en vista del documento US6,328,999 (D1) y de las reivindicaciones 6 a 12 en vista de lo reportado en CN1586550 (D2)

En relación con los argumentos presentados por el señor examinador en su concepto técnico No. 525, nos permitimos decir que la presente invención hace referencia a un método de multipasos para la preparación de un extracto de Ginkgo Biloba que es mejorado gracias a que en él se reduce el contenido de 4'-O-metilpiridoxina y/o de biflavonas. Esta ventaja técnica se logra a través de la filtración sobre una resina adsorbente (para reducir el contenido de biflavonas) y/o sobre un intercambiador de iones (para reducir el contenido de 4'-O-metilpiridoxina), en donde las sustancias retiradas son retenidas sobre la resina.

Sumado a lo anterior, es importante hacer énfasis sobre el hecho que la invención en estudio también hace referencia al extracto de Ginkgo Biloba que tiene un contenido reducido de 4-O-metilpiridoxina y/o biflavonas, como así se establece en la nueva página 1 de la memoria descriptiva.

El proceso de la presente invención proporciona extractos que contienen menos de 20 partes por millón (ppm) de biflavonas, como así se puede corroborar en la tabla 1 de la nueva página 13 de la memoria descriptiva y en la reivindicación 6, en tanto que el Ejemplo 3 de D1 proporciona un contenido más alto de biflavonas que está en 28 ppm.

En este sentido, atentamente se dirige la atención del señor examinador al Ejemplo 2 de la anterioridad D1 que reporta un contenido de 60 ppm para

biflavonas. Por consiguiente, es claro que el contenido de 28 ppm para biflavonas en el extracto de acuerdo con el Ejemplo 3 de D1 no corresponde a un límite superior del contenido de biflavonas susceptible de ser alcanzado a la fecha de prioridad de dicho documento. Por el contrario, este contenido corresponde al límite más bajo alcanzable en la técnica. En otros ejemplos, tal como en el Ejemplo 2, únicamente se podrían alcanzar contenidos altos de 60 ppm.

En consecuencia, la referencia hecha en D1 en cuanto a que el contenido de menos de 100 ppm para biflavonas, tiene que ser interpretada a la luz del contenido de la divulgación de tal anterioridad como un todo y ha de ser entendida a la luz de los ejemplos específicos 2 y 3 de D1 de tal modo que los contenidos de menos de 20 ppm para biflavonas como los contenidos reclamados en la presente invención, no se encuentran comprendidos por el contenido de la divulgación de la anterioridad D1.

Más aún, la divulgación general de menos de 50 ppm para 4'-O-metil piridoxina en D1, únicamente comprende el intervalo inferior del límite de detección del respectivo componente a la fecha de prioridad de D1. Entonces, a partir de lo mostrado en los ejemplos 1 y 2 de D1, es evidente que a la fecha de prioridad de D1, el límite más bajo de detección para la 4'-O-metil piridoxina era de 50 ppm. De hecho, ambos ejemplos hacen referencia a un contenido de 4'-O-metil piridoxina de "menos de 50 ppm".

De otra parte, de acuerdo con la presente invención, los extractos pueden ser obtenidos de acuerdo con el proceso de la invención con un contenido de tan solo 0.4 ppm y de 0.8 ppm de 4'-O-metil piridoxina (véase por favor la tabla 1 en la página 13 de la nueva descripción).

Finalmente, de manera atenta se dirige la atención del señor examinador al ejemplo comparativo 3 de la presente invención, el cual fue llevado a cabo de acuerdo con el método de la reivindicación 4 de D1. De acuerdo con el método de D1, se había alcanzado un contenido de 52 ppm de 4'-O-metil piridoxina y el contenido de biflavonas (31.3 ppm) está por encima del límite superior de 20 ppm como se indica en la reivindicación 6 de la presente invención y es tan alto como el contenido citado en el ejemplo 3 de D1.

En resumen, es claro que la anterioridad D1 no reporta ni sugiere un extracto proveniente de hojas de Ginkgo biloba y un proceso para la obtención de un extracto que contenga menos de 10 ppm de 4'-O-metil piridoxina y/o menos de 20 ppm de biflavonas. Por lo tanto, el proceso de la solicitud en estudio y los extractos reclamados no podrían ser evidentes para una persona medianamente versada en la materia técnica a partir de las enseñanzas de esta anterioridad.

De hecho, el proceso de la presente invención proporciona extractos mejorados de hojas de Ginkgo biloba en los que de manera inesperada se ha logrado alcanzar cantidades muy reducidas de los compuestos indeseados 4'-o-metil

piridoxina y biflavonas que causan efectos laterales indeseados que a su vez pueden ser reducidos mucho más que los extractos producidos mediante el proceso de la anterioridad D1. Al mismo tiempo, los ingredientes activos deseados del extracto no son reducidos, lo cual es una tarea difícil de ser alcanzada teniendo en cuenta la complejidad de la composición del extracto que contiene un número considerable de ingredientes activos deseados con diferentes estructuras químicas.

En este sentido, es importante señalar que en ninguna parte de la técnica anterior era sugerida que las biflavonas puede ser retenidas sobre una resina adsorbente y que la 4'-O-metilpiridoxina puede ser retenida sobre un intercambiador iónico como específicamente se define en la descripción y en las reivindicaciones de la presente invención, sin retener al mismo tiempo alguna de las sustancias benéficas y consideradas como ingredientes activos dentro del extracto. Estos hechos son evidenciados por los ejemplos proporcionados en la presente solicitud y son debidamente resumidos en la tabla 1 de la nueva página 13 de la descripción.

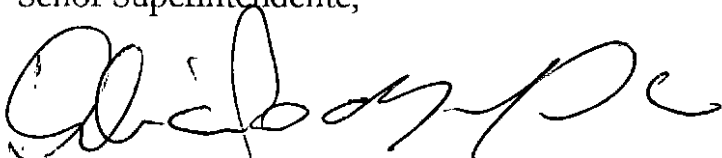
En relación con el documento D2, atentamente nos permitimos decir que en el resumen de la solicitud CN1586550, se especifica que el extracto de ginkgo biloba tiene un total de flavona es de más del 70%, lo cual de plano es distinto a lo buscado en la presente invención que es reducir la presencia de compuestos biflavona. En este sentido, si bien es cierto que en D2 se desarrolla extractos de Ginkgo biloba, también es cierto que este documento para nada sugiere que la presencia de biflavonas dentro del extracto pueda ser de alguna manera disminuida. De hecho, D2 habla de cantidades altas de flavonas, lo cual no motivaría a una persona medianamente versada en la técnica a combinar cualquier enseñanza de esta anterioridad con lo mostrado en D1 para llegar de manera evidente a los extractos de ginkgo biloba reclamados en la presente solicitud.

Así las cosas, amablemente nos permitimos solicitar que sean retiradas las objeciones de altura inventiva respecto a la presente invención, toda vez que, como ya se logró demostrar en este escrito, la solicitud en estudio cumple con este requisito sobre las enseñanzas de las anterioridades, ya que no era evidente lograr el proceso multipasos ni los extractos de Ginkgo biloba obtenidos por el mismo con una cantidad reducida de 4'-O-metilpridoxina y/o diflavonas.

En consecuencia, de manera atenta solicitamos a ese despacho conceder el privilegio de patente de invención para la solicitud en estudio o si es el caso, solicitamos a ese despacho pronunciarse en relación con todos los argumentos presentados en este memorial dando estricta aplicación al principio del debido proceso consagrado en el artículo 29 de la Constitución Nacional. De igual forma, si el examinador considera que subsisten razones para objetar la presente invención ruego expedir otro examen de fondo con los debidos motivos y razones que sustenten su objeción con el fin de que mi mandante tenga la posibilidad de exponer sus argumentos con base en la interpretación de los

artículos 45 de la Decisión 486 -el cual otorga la facultad al examinador para emitir los exámenes de fondo-, 35 y 59 del Código Contencioso Administrativo que señala que: *"habiéndose dado oportunidad a los interesados para expresar sus opiniones, y con base en las pruebas e informes disponibles, se tomará la decisión que será motivada al menos en forma sumaria si afecta a particulares" y "(.) deberá proferirse la decisión definitiva. Esta se motivará en sus aspectos de hecho y de derecho, y en los de conveniencia si es el caso", respectivamente (El subrayado es nuestro).*

Señor Superintendente,



DILIA MARIA RODRIGUEZ D'ALEMAN

CC. 41.654.882

TP 20824 CSJ

NEA

**MÉTODO DE MULTIPASOS PARA PREPARAR EXTRACTOS DE GINKGO
BILOBA QUE TIENEN UN CONTENIDO BAJO DE 4'-O-METIL PIRIDOXINA Y/O
BIFLAVONAS**

5 **RESUMEN**

Método mejorado de pasos múltiples para preparar un extracto de ginkgo biloba que tiene un contenido reducido de 4'-O-metil piridoxina y/o biflanovas, donde la reducción del contenido se efectúa por filtración a través de una resina de adsorción y/o un intercambiador de iones, y las sustancias a eliminar se retienen en la resina. Extracto de ginkgo biloba que tiene un contenido reducido de 4'-O-metil piridoxina y/o biflavonas que puede obtenerse con el método de acuerdo con la invención y su uso.

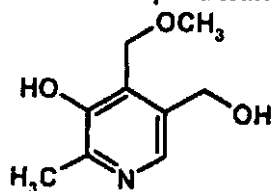
**MÉTODO DE MULTIPASOS PARA PREPARAR EXTRACTOS DE GINKGO
BILOBA QUE TIENEN UN CONTENIDO BAJO DE 4'-O-METIL PIRIDOXINA Y/O
BIFLAVONAS**

5 La presente invención se relaciona con un método mejorado de pasos
múltiples para preparar un extracto de ginkgo biloba que tiene un contenido
reducido de 4'-O-metil piridoxina y/o biflavonas, donde la reducción del contenido
se efectúa por filtración a través de una resina de adsorción y/o un intercambiador
de iones, y las sustancias a eliminar se retienen en la resina. Además, la invención
10 se relaciona con un extracto de ginkgo biloba que tiene un contenido reducido de
4'-O-metil piridoxina y/o biflavonas que puede obtenerse con el método de acuerdo
con la presente invención, así como con su uso.

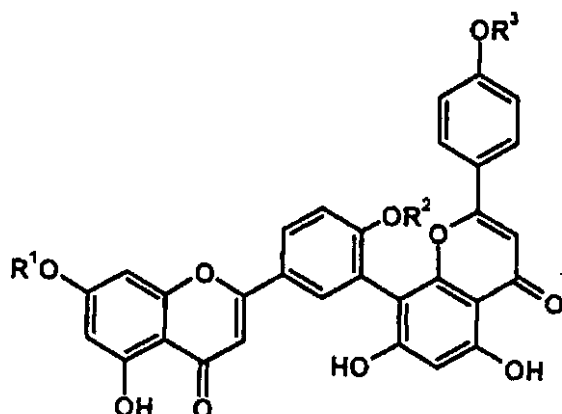
 Los extractos de hojas de ginkgo biloba se usan como medicamentos desde
15 hace décadas. En la actualidad se los usa para el tratamiento de distintos tipos de
demencia, y de los síntomas relacionados con esta enfermedad, así como
trastornos de la circulación sanguínea cerebral y periférica. Los ingredientes con
los cuales se asocia la eficacia son las lactonas de terpenos (ginkgólidos A, B, C y
bilobalida), así como los glicoósidos de flavonas (quercetina, kaempferol e
20 isoramnetina). Las hojas de ginkgo biloba también contienen componentes que no
contribuyen a la eficacia deseada, sino que pueden ser responsables de riesgos y
efectos colaterales. Además de los ingredientes vegetales no polares, tales como
los ácidos ginkgólicos, aquellos componentes son la 4'-O-metil piridoxina y las
biflavonas. Por lo tanto, en un extracto de ginkgo, que al mismo tiempo es eficaz,
25 es tan seguro como resulta posible y presenta la menor cantidad de efectos
colaterales posibles, estos compuestos no deberían estar presentes en la mayor
medida posible.

 La 4'-O-metil piridoxina puede provocar síntomas de envenenamiento, tales
30 como ataques convulsivos e inconsciencia. Por consiguiente, este compuesto
también se conoce como ginkgotoxina. Las biflavonas contenidas en el ginkgo
presentan potencial inmunotóxico y pueden provocar alergias de contacto. Estas
biflavonas contenidas en ginkgo son predominantemente los compuestos
amentoflavona, bilobetina, ginkgetina, isoginkgetina y sciadopitiisina.

4'-O-Metil piridoxina:



Biflavonas:



Amentoflavona: $R^1 = R^2 = R^3 = H$

Bilobetina: $R^1 = R^3 = H, R^2 = OCH_3$

Ginkgetina: $R^3 = H, R^1 = R^2 = OCH_3$

Isoginkgetina: $R^1 = H, R^2 = R^3 = OCH_3$

Sciadopitisina: $R^1 = R^2 = R^3 = OCH_3$

Se han descrito métodos para reducir simultáneamente el contenido de 4'-O-metil piridoxina y biflavonas, así como los extractos obtenidos, en EP 1 037 646 B1. En dicha publicación, se retiene la 4'-O-metil piridoxina mediante el uso de un intercambiador de cationes ácidos, y las biflavonas se adsorben en carbón activado. Preferiblemente, estos pasos de reducción de contenido se realizan después del paso f) del método de acuerdo con EP 1 037 646 B1 (página 3), es decir, después de "tratar la solución con un compuesto de plomo o una poliamida insoluble". El método de EP 1 037 646 B1 se basa en el método descrito originalmente en DE 39 40 091 C2.

En EP 1 037 646 B1, la reducción del contenido de biflavonas y 4'-O-metil piridoxina se realiza en una etapa del método (paso f)) en la que hay contenidos relativamente elevados de sales de plomo y sales de amonio presentes, de modo que es necesario emplear una mayor cantidad de intercambiador de iones.

Además, se describen y reivindican las reducciones en el contenido de biflavonas y 4'-O-metil piridoxina solamente en combinación. Sin embargo, dependiendo de los límites que posiblemente se establezcan en el futuro, y considerando el requerimiento de realizar una modificación tan pequeña de la composición del extracto como sea posible, puede ser deseable eliminar solamente las biflavonas o la 4'-O-metil piridoxina.

Además, los contenidos de menos de 50 ppm de 4'-O-metil piridoxina y menos de 100 ppm de biflavonas indicados en EP 1 037 646 B1 aún son comparativamente elevados. Como en EP 1 037 646 B1 no se describe un ejemplo comparativo, tampoco resulta posible observar el grado de reducción real del contenido obtenido en los Ejemplos 2 y 3 a partir de esta referencia.

Por consiguiente, el objeto subyacente de la presente invención es proporcionar un método para preparar extractos de ginkgo que tienen un contenido bajo de 4'-O-metil piridoxina y/o un contenido bajo de bioflavonas, que no presente las desventajas indicadas previamente y, en particular,

- en el que se empleen adsorbentes reciclables y/o de muy bajo costo,
- que resulte en contenidos de 4'-O-metil piridoxina menores que 20 ppm, preferiblemente menores que 10 ppm, y en particular preferiblemente menores que 2 ppm, y/o contenidos de biflavonas menores que 20 ppm, preferiblemente menores que 10 ppm y en particular preferiblemente menores que 5 ppm, y
- que resulte en extractos que tengan contenidos preferidos de flavonoides de entre 20 y 30% en peso (en particular preferiblemente, entre 22,0 y 27,0%), de lactonas de terpenos de entre 4,5 y 8,5% en peso (en particular preferiblemente, entre 5,0 y 7,0%, preferiblemente entre 2,8 y 3,4% de los ginkgólidos A, B y C, y entre 2,6 y 3,2% de bilobalida), y de ácidos ginkgólicos (a lo sumo de 5 ppm), donde dichos contenidos de flavonoides de entre 22,0 y 27,0%, de lactonas de terpenos de entre 5,0 y 7,0% (entre 2,8 y 3,4% de ginkgólidos A, B y C, y entre 2,6 y 3,2% de bilobalida), y de ácidos ginkgólicos (a lo sumo de 5 ppm) satisfacen los requerimientos de la Farmacopea Alemana 2003 ("Deutsches Arzneibuch"; DAB).

De acuerdo con la DAB, los flavonoides se determinan bajo la forma de quercetina, kaempferol e isoramnetina después de una hidrólisis ácida, y se calculan como glicósidos flavonoides.

- 5 Este objeto podría alcanzarse separando las biflavonas con resinas de adsorción y/o separando la 4'-O-metil piridoxina con intercambiadores de iones ácidos.

10 Con el fin de producir los extractos de acuerdo con la presente invención, preferiblemente se pone en práctica el siguiente método, donde los pasos a) a i), así como m), son como se ha descrito esencialmente en DE 39 40 091 C2, cuya descripción total, en particular respecto de los detalles del método, se incorporará en la presente solicitud a modo de referencia:

- 15 a) extraer las hojas de ginkgo biloba (droga) a una temperatura de 20-100°C, preferiblemente 40-60°C, mediante el uso de acetona con agua, con un contenido de 20-90% en peso, un alcohol con entre 1 y 3 átomos de carbono (metanol, etanol, n-propanol e isopropanol) que contiene agua, y un contenido de 20-90% en peso de metanol anhidro, donde la relación droga: solvente es de entre 1:4 y 1:20, preferiblemente entre 1:5 y 1:10,
- 20 b) separar el solvente orgánico mediante la evaporación del mismo hasta un contenido de a lo sumo del 10% en peso (preferiblemente a lo sumo del 5% en peso), donde puede agregarse agua durante los pasos de destilación finales,
- 25 c) diluir la solución acuosa remanente con agua hasta obtener un contenido de sólidos de entre 5 y 25% en peso (preferiblemente entre 15 y 20% en peso), enfriar la solución a una temperatura inferior a 25°C (preferiblemente de entre aproximadamente 10 y 12°C), y permitir que la solución acuosa remanente repose hasta que se forme un precipitado,
- 30 d) tratar la solución acuosa remanente con sulfato de amonio (preferiblemente hasta un contenido de hasta 40% en peso, en particular preferiblemente entre 25 y 35% en peso), y luego extraer la solución al menos una vez mediante el uso de metil etil cetona o una mezcla de metil etil cetona y acetona (preferiblemente en una relación de entre 9:1 y 4:6, en particular 6:4),
- 35 e) concentrar el extracto obtenido (preferiblemente hasta obtener un contenido de sólidos de entre 50 y 70% en peso) y diluir el extracto con una mezcla de etanol y agua para obtener una solución que contiene 50% en peso de agua y 50% en peso de etanol, y que tiene un contenido de sólidos de 10% en peso,

- f) tratar la solución con un compuesto de plomo (preferiblemente con acetato de plomo, acetato de hidróxido de plomo, nitrato de plomo o una suspensión acuosa de hidróxido de plomo) hasta que se obtiene un cambio de color, de marrón a pardo, o una poliamida insoluble (preferiblemente poliamida 6, poliamida 6,6 o polivinilpirrolidona reticulada (polividona)),
- g) extraer la solución filtrada mediante el uso de un solvente alifático o cicloalifático con un punto de fusión de entre 60°C y 100°C,
- h) concentrar la solución acuosa alcohólica remanente, luego tratar la solución con sulfato de amonio y extraer la solución con metil etil cetona y etanol, (preferiblemente se concentra la solución a presión reducida, hasta obtener un contenido de etanol de hasta aproximadamente 5%, agregado con sulfato de amonio hasta un contenido de 20% en peso y extraído con el solvente en una relación de entre 8:2 y 5:5, preferiblemente 6:4),
- i) concentrar la fase orgánica obtenida hasta obtener un contenido de sólidos de entre 50 y 70% en peso,
- k) disolver el concentrado en un alcohol acuoso que tiene entre 1 y 3 átomos de carbono, y opcionalmente filtrar el producto,
- l) filtrar sobre una resina de adsorción y/o un intercambiador de iones, donde las sustancias a eliminar se retienen en la resina, y
- m) secar el concentrado (preferiblemente a una temperatura máxima de entre 60°C y 80°C) a presión reducida para obtener un extracto seco que tiene un contenido de agua menor que 5%.

El método de acuerdo con la presente invención tiene la ventaja de que el paso de reducción de contenido se realiza al final del método. Por consiguiente, es necesario emplear una menor cantidad de intercambiador de iones, y se obtienen contenidos particularmente bajos de 4'-O-metil piridoxina y/o biflavonas.

Las resinas de adsorción preferidas en el paso l) son resinas basadas en estirenos/divinilbencenos opcionalmente sustituidos, tales como Diaion HP-20, HP-21 o Sepabeads SP-207 y SP-850. Los intercambiadores de iones preferidos son intercambiadores de iones fuertemente ácidos, tales como Merck I o Amberlite IR-120. La filtración incluye opcionalmente el lavado normal mediante el uso de solvente adicional. El alcohol acuoso en el paso k) es metanol, etanol, n-propanol o isopropanol acuoso, preferiblemente con un contenido de 20-90% en peso,

respectivamente, de etanol acuoso, donde se prefiere en particular una concentración de entre 40 y 60% en peso.

Un objetivo de la presente invención lo constituyen los extractos, en particular los extractos secos, que pueden obtenerse con el método de acuerdo con la presente invención, y que presentan los siguientes contenidos:

- menos de 20 ppm, preferiblemente menos de 10 ppm y en particular menos de 2 ppm de 4'-O-metil piridoxina, y/o
- menos de 20 ppm, preferiblemente menos de 10 ppm y en particular menos de 5 ppm de biflavonas.

Además, un objetivo de la presente invención lo constituyen los extractos, en particular los extractos secos, que pueden obtenerse con el método de acuerdo con la presente invención, y que presentan los siguientes contenidos adicionales:

- entre 20 y 30% en peso, preferiblemente entre 22,0 y 27,0% en peso de flavonoides,
- entre 4,5 y 8,5% en peso, preferiblemente entre 5,0 y 7,0% en peso de lactonas de terpenos, y
- menos de 10 ppm, preferiblemente no más de 5 ppm de ácidos ginkgólicos.

Otro objeto de la presente invención lo constituyen los extractos, en particular los extractos secos, que pueden obtenerse con el método de acuerdo con la presente invención, y que presentan los siguientes contenidos:

- entre 20 y 30% en peso, preferiblemente entre 22,0 y 27,0% en peso de flavonoides,
- entre 2,5 y 4,5% en peso de ginkgólidos A, B y C en total, preferiblemente entre 2,8 y 3,4% en peso de ginkgólidos A, B y C en total,
- entre 2,0 y 4,0% en peso, preferiblemente entre 2,6 y 3,2% en peso de bilobalida,
- menos de 10 ppm, preferiblemente no más de 5 ppm de ácidos ginkgólicos, y
- menos de 20 ppm, preferiblemente menos de 10 ppm, en particular preferiblemente menos de 2 ppm de 4'-O-metil piridoxina, y/o

- menos de 20 ppm, preferiblemente menos de 10 ppm y en particular preferiblemente menos de 5 ppm de biflavonas,

Específicamente, el objetivo de la presente invención lo constituyen los extractos, en particular los extractos secos, que pueden obtenerse con el método de acuerdo con la presente invención, y que presentan los siguientes contenidos:

- entre 20 y 30% en peso de flavonoides, seleccionados del grupo que comprende cuercetina, kaempferol y glicosidas isorhamnetin,
- entre 4,5 y 8,5% en peso de lactonas de terpenos, y
- menos de 10 ppm de ácidos ginkgólicos;

ó

Un extracto que puede obtenerse con el método de acuerdo con la presente invención, y que presenta los siguientes contenidos:

- entre 22,0 y 27,0 % en peso de flavonoides, seleccionados del grupo que comprende cuercetina, kaempferol y glicosidas isorhamnetin,
- entre 5,0 y 7,0% en peso de lactonas de terpenos, y
- a lo sumo 5 ppm de ácidos ginkgólicos;

ó

Un extracto que puede obtenerse con el método de acuerdo con la presente invención, y que presenta los siguientes contenidos:

- entre 22,0 y 27,0 % en peso de flavonoides, seleccionados del grupo que comprende cuercetina, kaempferol y glicosidas isorhamnetin,
- entre 2,8 y 3,4% en peso de ginkgólidos A, B y C en total,
- entre 2,6 y 3,2% en peso de bilobalida, y
- a lo sumo 5 ppm de ácidos ginkgólicos.

De acuerdo con la Farmacopea Europea, los extractos secos generalmente tienen un residuo seco de al menos 95% en peso.

Los extractos de acuerdo con la presente invención pueden administrarse bajo la forma de polvos, gránulos, tabletas, grageas (tabletas recubiertas) o cápsulas, preferiblemente por vía oral. Con el fin de preparar tabletas, el extracto se mezcla con coadyuvantes farmacéuticamente aceptables, tales como lactosa, celulosa, dióxido de silicio, croscarmelosa y estearato de magnesio, y se comprime en tabletas, sobre las cuales, opcionalmente se aplica un recubrimiento apropiado,

por ejemplo, un recubrimiento hecho de hidroximetilcelulosa, polietilenglicol, pigmentos (tales como dióxido de titanio, óxido de hierro) y talco. El extracto de acuerdo con la presente invención también puede colocarse en cápsulas, opcionalmente con la adición de coadyuvantes, tales como estabilizadores, rellenos y semejantes. La dosificación es tal que se administran entre 10 y 2000 mg, preferiblemente entre 50 y 1000 mg, y en particular preferiblemente entre 100 y 500 mg de extracto por día.

Otro objeto de la presente invención lo constituyen los medicamentos, los productos alimenticios y otras preparaciones que contienen estos extractos, opcionalmente en combinación con otras sustancias, tales como ingredientes activos y/o coadyuvantes farmacéuticamente aceptables. El término "producto alimenticio", tal como se emplea en la presente invención, particularmente hace referencia a productos alimenticios dietéticos, suplementos para productos dietéticos, y también suplementos para alimentos médicos y dietéticos.

EJEMPLOS

Preparación de la solución de extracto empleada en los ejemplos 1 y 2, y también en los ejemplos comparativos 1 y 2

Se extrajeron hojas secas de ginkgo biloba (droga) a una temperatura de aproximadamente 50°C mediante el uso de siete veces su peso (p/p), es decir, la relación de droga-solvente es de 1:7, de acetona/agua 60/40 (p/p) (paso a)).

El solvente orgánico se separó en gran medida del extracto (paso b)), y la solución acuosa concentrada remanente se diluyó con agua hasta obtener un contenido de sólidos de aproximadamente 10% en peso. La solución se enfrió hasta una temperatura de aproximadamente 12°C con agitación, y se eliminó el precipitado resultante (paso c)).

Se agregó aproximadamente 30% en peso de sulfato de amonio a la solución acuosa remanente, y se extrajo la solución formada usando una mezcla de metil etil cetona y acetona en una relación de 6:4 (paso d)).

El extracto obtenido se concentró en gran medida, y el concentrado obtenido de este modo se diluyó con agua y etanol, de modo que se obtuvo una solución que contenía 50% en peso de agua y 50% en peso de etanol, con un

contenido de sólidos de aproximadamente 10% en peso (paso e)). Se filtró la solución y se agregó el filtrado con una solución acuosa de acetato de hidróxido de plomo (paso f)).

- 5 Después de una filtración adicional, se extrajo la solución acuosa alcohólica remanente con heptano (paso g)).

- 10 Luego se concentró la solución acuosa remanente a presión reducida hasta obtener un contenido de etanol de aproximadamente 5%, y se agregó sulfato de amonio hasta obtener un contenido de aproximadamente 20% en peso, sobre la base del contenido de agua.

- 15 La solución obtenida se extrajo mediante el uso de una mezcla de metil etil cetona y etanol en una relación de 6:4 (paso h)).

- 20 La fase orgánica resultante se extrajo en gran medida (con un contenido de sólidos de aproximadamente 55% en peso) (paso i)). Luego se diluyó el producto con etanol y agua, de modo que se obtuvo una solución con un contenido de etanol de aproximadamente 75% y un contenido de sólidos de aproximadamente 15% (paso k)).

Ejemplo 1: Extracto de ginkgo que tiene un contenido reducido de 4'-O-metil piridoxina

- 25 Se ajustaron con agua 1249 g de la solución de extracto, obtenida de acuerdo con el método de preparación descrito previamente, hasta alcanzar un contenido de etanol de aproximadamente 40% (p/p), y se la aplicó a 50 mL (que corresponden a 0,28 ml/g del extracto seco) de Amberlita IR-120 (intercambiador de iones fuertemente ácido) (columna: de aproximadamente 2 x 16,5 cm; flujo: aproximadamente 8 mL/minuto) (paso l)), a lo que siguió un lavado con 200 mL de etanol al 50% (p/p). La solución resultante se concentró en un evaporador rotativo y se secó al vacío a 50°C (paso m)): 179,4 g.

- 35 Como puede apreciarse en la siguiente tabla, se obtuvo un contenido de 4'-O-metil piridoxina de 0,4 ppm, sin modificar esencialmente los contenidos de los ingredientes con relevancia en la eficacia.

Ejemplo comparativo 1: Extracto de ginkgo sin reducción de contenido de acuerdo con el paso l) de la presente invención

Se concentraron por evaporación 98,4 g de la solución de extracto empleada en el ejemplo 1, se secó al vacío a 50°C: 14,7 g.

5

Ejemplo 2a): Extracto de ginkgo que tiene un contenido reducido de biflavonas

Se ajustaron con agua 500 g de la solución de extracto obtenida de acuerdo con el método de preparación descrito previamente, hasta alcanzar un contenido de etanol de aproximadamente 40% (p/p), y se los aplicó a 400 mL (que corresponden a 5,7 mL/g del extracto seco) de Sepabeads SP-850 (resina de adsorción) (columna: de aproximadamente 4 x 32 cm; flujo: aproximadamente 8 mL/minuto) (paso l)), a lo que siguió un lavado con aproximadamente 2 L de 40% de etanol (p/p) en total. Se concentró 10% de la solución resultante (259,3 g) en un evaporador rotativo y se secó por congelamiento (paso m)): 6,92 g. El 90% restante de la solución se empleó en el ejemplo 2b).

10
15

Como puede apreciarse en la siguiente tabla, se obtuvieron contenidos de biflavona menores que 1 ppm, respectivamente, sin modificar esencialmente los contenidos de los ingredientes con relevancia en la eficacia.

20

Ejemplo 2b): Extracto de ginkgo que tiene un contenido reducido de 4'-O-metil piridoxina y biflavonas

Se aplicó 90% de la solución obtenida en el ejemplo 2a) (2334,1 g) a 25 mL (que corresponde a 0,40 mL/g del extracto seco) de Amberlita IR-120 (intercambiador de iones fuertemente ácido) (columna: de aproximadamente 1,5 x 11 cm; flujo: aproximadamente 10 mL/minuto) (paso l)), a lo que siguió un lavado con 100 mL de etanol al 40% (p/p). La solución resultante se concentró en un evaporador rotativo y se secó por congelamiento (paso m)): 61,67 g.

25
30

Como puede apreciarse en la siguiente tabla, se obtuvo un contenido de 4'-O-metil piridoxina de 0,4 ppm y contenidos de biflavonas menores que 1 ppm, respectivamente, sin modificar esencialmente los contenidos de los ingredientes con relevancia en la eficacia.

35

Ejemplo comparativo 2: Extracto de ginkgo sin reducción de contenido de acuerdo con el paso l) de la presente invención

Se concentraron por evaporación 50 g de la solución de extracto empleada en el ejemplo 2a), y se secó por congelamiento: 7,05 g.

5

Ejemplo comparativo 3: Extracto de ginkgo con reducción del contenido de biflavona y reducción del contenido de 4'-O-metil piridoxina después de un tratamiento con un compuesto de plomo (paso f)) de acuerdo con EP 1 037 646 B1

10

Se extrajeron hojas secas de ginkgo biloba (droga) a una temperatura de aproximadamente 50°C mediante el uso de siete veces su peso (p/p) (es decir, la relación de droga-solvente es de 1:7) de acetona/agua 60/40 (p/p) (paso a)).

15

El solvente orgánico se separó en gran medida del extracto y la solución acuosa concentrada remanente se diluyó con agua hasta obtener un contenido de sólidos de aproximadamente 10% en peso, se enfrió hasta una temperatura de aproximadamente 12°C con agitación, y se eliminó el precipitado resultante.

20

Se agregó aproximadamente 30% en peso de sulfato de amonio a la solución acuosa remanente, y se extrajo la solución formada mediante el uso de una mezcla de metil etil cetona y acetona en una relación de 6:4.

25

El extracto obtenido se concentró en gran medida, y el concentrado obtenido de este modo se diluyó con agua y etanol, de modo que se obtuvo una solución que contenía 50% en peso de agua y 50% en peso de etanol, con un contenido de sólidos de aproximadamente 10% en peso. Se filtró la solución y se agregó el filtrado con una solución acuosa de acetato de hidróxido de plomo (paso f)).

30

Se agitaron 150 mL de la solución obtenida de este modo (porción de extracto seco: 7,1%; contenido de etanol: aproximadamente 50%) con 2,5 g (que corresponden a 0,17 g/g de producto final) de carbón activado por 30 minutos a temperatura ambiente. El filtrado se aplicó a una columna con 4,2 mL (que corresponden a 0,28 ml/g de producto final) de un intercambiador de cationes fuertemente ácido (Merck I). La columna intercambiadora de iones se lavó 4 veces con 5 mL de EtOH (al 50%).

35

Las porciones eluidas combinadas se extrajeron con agitación mediante el empleo de 3 x 70 mL de n-hexano. La fase de etanol/agua se concentró en un evaporador rotativo y se diluyó con agua hasta 100 g. La solución de extracto obtenida de este modo se extrajo una vez con 40 mL, 2 veces con 30 mL y una vez con 20 mL de una mezcla de metil etil cetona:etanol en una relación de 3:2, donde se agregaron 15 g de sulfato de amonio para efectuar la separación de fases.

La fase orgánica se agitó por 1 hora a temperatura ambiente después de agregar 25 g de sulfato de amonio. Se separó el sulfato de amonio no disuelto, así como la fase acuosa formada. La solución de extracto se concentró en un evaporador rotativo a 50°C y se secó al vacío a 60°C: 14,8 g.

Como puede observarse en la siguiente tabla, se obtuvo un contenido de 4'-O-metil piridoxina de 52 ppm y un contenido de biflavona de 31,3 ppm, lo que representa contenidos significativamente mayores y resultados de reducción de contenido inferiores respecto del ejemplo 2b) de acuerdo con la presente invención.

La determinación de los contenidos de flavonoides, lactonas de terpenos y ácidos ginkgólicos indicados en la Tabla 1 se realizó de acuerdo con la DAB.

La determinación cuantitativa de la 4'-O-metil piridoxina se realizó por medio de detección con HPLC y fluorescencia, después de efectuar un enriquecimiento con cartuchos Sep Pak Plus C18, a lo que siguió un enriquecimiento con cartuchos Bond Elut LRC-SCX, donde se empleó una columna Fenomenex Prodigy ODS-3 de HPLC de 5 μ , y un gradiente de ácido trifluoroacético (pH 2): metanol = 9:1 (v/v) $\rightarrow$ metanol.

Se realizó la determinación de los contenidos de las biflavonas indicadas en la Tabla 1 por medio de detección con HPLC y UV a 340 nm, empleando una columna Waters Nova Pak C18 con un gradiente de agua: acetonitrilo de 9:1 (v/v) + 0,3% en volumen de ácido fosfórico (85%) $\rightarrow$ acetonitrilo + 0,3% en volumen de ácido fosfórico.

En cada caso, se realizó la calibración mediante el uso de sustancias de referencia con un grado elevado de pureza definida.

Tabla 1: Composición de los extractos de acuerdo con los ejemplos proporcionados previamente

Extracto de acuerdo con	Ejemplo 1	Ejemplo comparativo 1	Ejemplo 2a)	Ejemplo 2b)	Ejemplo comparativo 2	Ejemplo comparativo 3
Flavonoides [%]	24,86	24,51	27,17	25,32	25,89	22,78
Ginkgólidos A, B, C [%]	3,28	2,94	2,97	3,04	2,97	3,40
Bilobalida [%]	3,17	3,03	3,18	3,14	3,07	3,07
Lactonas de terpenos [%]	6,45	5,97	6,15	6,18	6,04	6,47
Ácidos ginkgólicos [ppm]	< 5	< 5	< 5	< 5	< 5	< 5
4'-O-metil piridoxina [ppm]	0,4	104,5	164	0,8	89	52
Amentoflavona [ppm]	68,5	78,7	n. d. (< 1)	n. d. (< 1)	81,6	12,6
Bilobetina [ppm]	123,3	120,4	n. d. (< 1)	n. d. (< 1)	136,4	10,4
Ginkgetina [ppm]	86,3	82,1	n. d. (< 1)	n. d. (< 1)	86,1	2,7
Isoginkgetina [ppm]	103,3	104,4	n. d. (< 1)	n. d. (< 1)	111,5	4,8
Sciadopitisina [ppm]	44,0	43,0	n. d. (< 1)	n. d. (< 1)	44,0	0,8
Cantidad total de biflavonas [ppm]	425,4	428,6	n. d. (< 5)	n. d. (< 5)	459,6	31,3

n. d. = no detectable

REIVINDICACIONES

1. Un método para producir un extracto de ginkgo biloba, caracterizado porque
5 comprende los siguientes pasos:

- a) extraer hojas de ginkgo biloba mediante el uso de acetona con agua,
un alcanol de 1 a 3 átomos de carbono con agua, o metanol anhidro;
- b) separar el solvente orgánico concentrando el solvente hasta obtener
10 un contenido de a lo sumo 10% en peso, donde puede agregarse
agua durante los pasos de destilación finales,
- c) diluir la solución acuosa remanente con agua hasta obtener un
contenido de sólidos de entre 5 y 25% en peso, enfriar a una
temperatura inferior a 25°C, y permitir el reposo hasta la formación
15 de un precipitado,
- d) tratar la solución acuosa remanente con sulfato de amonio y luego
realizar al menos una extracción usando metil etil cetona o una
mezcla de metil etil cetona y acetona,
- e) concentrar el extracto obtenido y diluir con una mezcla de etanol y
20 agua para obtener una solución que contiene 50% en peso de agua
y 50% en peso de etanol, con un contenido de sólidos de 10% en
peso,
- f) tratar la solución con un compuesto de plomo o una poliamida
insoluble,
- 25 g) extraer la solución filtrada usando un solvente alifático o cicloalifático
con un punto de fusión de entre 60°C y 100°C,
- h) concentrar la solución acuosa alcohólica remanente, luego realizar
un tratamiento con sulfato de amonio y una extracción con metil etil
cetona y etanol,
- 30 i) concentrar la fase orgánica obtenida hasta obtener un contenido de
sólidos de entre 50 y 70% en peso,
- k) disolver el concentrado en un alcanol acuoso que tiene entre 1 y 3
átomos de carbono, y opcionalmente filtrar,
- l) filtrar sobre una resina de adsorción para reducir el contenido de
35 biflanoves y/o un intercambiador de iones para reducir el contenido

de 4'-O-metil piridoxina, donde las sustancias a eliminar se retienen en la resina, y

m) secar el concentrado a presión reducida para obtener un extracto seco que tiene un contenido de agua menor que 5%.

5

2. Un método de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque el alcohol acuoso en el paso k) es etanol acuoso.

10

3. Un método de acuerdo con la reivindicación 2, caracterizado porque el etanol acuoso es etanol con un contenido de entre 40% y 60% en peso.

4. Un método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado porque la resina de adsorción del paso l) es una resina basada en estirenos/divinilbencenos opcionalmente sustituidos.

15

5. Un método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado porque el intercambiador de iones del paso l) es un intercambiador de iones fuertemente ácido.

20

6. Un extracto de hojas de ginkgo biloba caracterizado porque tiene los siguientes contenidos:

- menos de 10 ppm de 4'-O-metil piridoxina y/o
- menos de 20 ppm de biflavonas seleccionadas del grupo que comprende amentoflavona, bilobetina, ginkgetin, isoginkgetina y siadopitisina.

25

7. Un extracto de acuerdo con la reivindicación 6, caracterizado porque tiene un contenido de 4'-O-metil piridoxina de menos de 2 ppm.

30

8. Un extracto de acuerdo con las reivindicaciones 6 ó 7, caracterizado porque tiene un contenido de biflavones de menos de 10 ppm.

9. Un extracto de acuerdo con las reivindicaciones 6 ó 7, caracterizado porque tiene un contenido de biflavonas de menos de 5 ppm.

35

10. Un extracto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 6 a 9, caracterizado porque tiene los siguientes contenidos:

- entre 20 y 30% en peso de flavonoides, seleccionados del grupo que comprende cuercetina, kaempferol y glicosidas isorhamnetin,
- entre 4,5 y 8,5% en peso de lactonas de terpenos, y
- menos de 10 ppm de ácidos ginkgólicos.

5

11. Un extracto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 6 a 9, caracterizado porque tiene los siguientes contenidos:

10

- entre 22,0 y 27,0 % en peso de flavonoides, seleccionados del grupo que comprende cuercetina, kaempferol y glicosidas isorhamnetin,
- entre 5,0 y 7,0% en peso de lactonas de terpenos, y
- a lo sumo 5 ppm de ácidos ginkgólicos.

15

12. Un extracto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 6 a 9, caracterizado porque tiene los siguientes contenidos:

20

- entre 22,0 y 27,0 % en peso de flavonoides, seleccionados del grupo que comprende cuercetina, kaempferol y glicosidas isorhamnetin,
- entre 2,8 y 3,4% en peso de ginkgólidos A, B y C en total,
- entre 2,6 y 3,2% en peso de bilobalida, y
- a lo sumo 5 ppm de ácidos ginkgólicos.

25

13. Un medicamento, un producto alimenticio u otra preparación, caracterizada porque tiene un contenido de un extracto de ginkgo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 6 a 12.