



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 2265277 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
A61K 36/81 (2006.01)
A61P 19/00 (2006.01)
A61P 19/10 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(21) Translation Published 2019.02.25

(80) Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent 2018.10.03

(86) European Application Nr. 08735341.3

(86) European Filing Date 2008.04.21

(87) The European Application's Publication Date 2010.12.29

(84) Designated Contracting States: AT ; BE ; BG ; CH ; CY ; CZ ; DE ; DK ; EE ; ES ; FI ; FR ; GB ; GR ; HR ; HU ; IE ; IS ; IT ; LI ; LT ; LU ; LV ; MC ; MT ; NL ; NO ; PL ; PT ; RO ; SE ; SI ; SK ; TR

(73) Proprietor Herbonis AG, Rheinstrasse 30, 4302 Augst, Sveits

(72) Inventor AUTZEN, Sabrina, Benzstrasse 13/5, 72762 Reutlingen, Tyskland
BACHMANN, Heinrich, Hauptstrasse 2, CH-4451 Wintersingen, Sveits

(74) Agent or Attorney PLOUGMANN VINGTOFT, Postboks 1003 Sentrum, 0104 OSLO, Norge

(54) Title **PREPARATION AND USE OF A PLANT EXTRACT FROM SOLANUM GLAUCOPHYLLUM WITH AN ENRICHED CONTENT OF 1,25-DIHYDROXYVITAMIN D3 GLYCOSIDES AND QUERCETIN GLYCOSIDES**

(56) References Cited: VON ROSENBERG ET AL: "Effect of vitamin D-containing plant extracts on osteoporotic bone" JOURNAL OF STEROID BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY, ELSEVIER SCIENCE LTD., OXFORD, GB, vol. 103, no. 3-5, 15 March 2007 (2007-03-15), pages 596-600, XP022275115 ISSN: 0960-0760, LISKOVA M ET AL: "EFFECT OF PURIFIED VITAMIN D-LIKE EXTRACTS OF SOLANUM MALACOXYLON ON BONE RESORPTION IN ORGAN CULTURE" ANATOMICAL RECORD, A.R. LISS, NEW YORK, NY, US, vol. 187, no. 4, 1 January 1977 (1977-01-01), page 639, XP009040887 ISSN: 0003-276X, NAPOLI J L ET AL: "SOLANUM GLAUCOPHYLLUM AS SOURCE OF 1,25-DIHYDROXYVITAMIN D3" JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, AMERICAN SOCIETY OF BIOLOCHEMICAL BIOLOGISTS, BIRMINGHAM,; US, vol. 252, no. 8, 25 April 1977 (1977-04-25), pages 2580-2583, XP009040875 ISSN: 0021-9258, KRAFT D ET AL: "THE EFFECT OF DIFFERENT SOLANUM MALACOXYLON EXTRACTS ON URINARY CALCIUM EXCRETION IN VITAMIN D DEFICIENT RATS" VITAMIN D: BIOCHEMICAL, CHEMICAL AND CLINICAL ASPECTS RELATED TO CALCIUM METABOLISM. PROCEEDINGS OF THE WORKSHOP, XX, XX, 9 January 1977 (1977-01-09), page 440, XP001204236, HORST RL ET AL: "Using Solanum Glaucophyllum as a Source of 1,25-dihydroxyvitamin D to Prevent Hypocalcemia in Dairy Cows" ACTA VETERINARIA SCANDINAVICA, BIOMED CENTRAL LTD, LO, vol. 44, no. Suppl 1, 31 March

2003 (2003-03-31), page P67, XP021026562 ISSN: 1751-0147, CLAUDIA M RASSI ET AL: "Modulation of osteoclastogenesis in porcine bone marrow cultures by quercetin and rutin" CELL AND TISSUE RESEARCH, SPRINGER, BERLIN, DE, vol. 319, no. 3, 1 March 2005 (2005-03-01), pages 383-393, XP019346466 ISSN: 1432-0878, US-A- 5 776 461, BOLAND DE A R ET AL: "A METHOD FOR THE ISOLATION OF THE ACTIVE PRINCIPLE OF SOLANUM MALACOXYLON" ANALYTICAL BIOCHEMISTRY, ACADEMIC PRESS INC. NEW YORK, vol. 75, no. 1, 1 January 1976 (1976-01-01), pages 308-313, XP009040930 ISSN: 0003-2697, CANAS F M ET AL: "EFFECTS OF SOLANUM MALOCOXYLON EXTRACT ON RACHITIC CHICKS COMPARATIVE STUDY WITH VITAMIN D3" CALCIFIED TISSUE RESEARCH, SPRINGER INTERNATIONAL, BERLIN, DE, vol. 23, no. 3, 1 January 1977 (1977-01-01), pages 297-302, XP009040889 ISSN: 0008-0594, STERN P H ET AL: "RESPONSES OF FETAL RAT BONES TO SOLANUM MALACOXYLON IN VITRO: A POSSIBLE EXPLANATION OF PREVIOUS PARADOXICAL RESULTS" MOLECULAR PHARMACOLOGY, BALTIMORE, MD, US, vol. 14, no. 2, 1 January 1978 (1978-01-01), pages 357-365, XP009040929 ISSN: 0026-895X, HAUSSLER M R ET AL: "1, 25-dihydroxyvitamin D3-glycoside: identification of a calcinogenic principle of Solanium malocoxylon" 15 May 1976 (1976-05-15), LIFE SCIENCES, PERGAMON PRESS, OXFORD, GB, PAGE(S) 1049 - 1056 , XP002312672 ISSN: 0024-3205 the whole document, CHENG Y H ET AL: "Utilizing Solanum glaucophyllum alone or with phytase to improve phosphorus utilization in broilers." March 2004 (2004-03), POULTRY SCIENCE, VOL. 83, NR. 3, PAGE(S) 406-413 , XP009105791 ISSN: 0032-5791 the whole document

Enclosed is a translation of the patent claims in Norwegian. Please note that as per the Norwegian Patents Acts, section 66i the patent will receive protection in Norway only as far as there is agreement between the translation and the language of the application/patent granted at the EPO. In matters concerning the validity of the patent, language of the application/patent granted at the EPO will be used as the basis for the decision. The patent documents published by the EPO are available through Espacenet (<http://worldwide.espacenet.com>) or via the search engine on our website here: <https://search.patentstyret.no/>

Patentkrav

1. Framgangsmåte for å framstille og rense en planteekstrakt fra arten *Solanum glaucophyllum* som omfatter komponentene vitamin-D₃-metabolitter til stede som 1,25-dihydroksyvitamin-D₃-glykosider i en konsentrasjon på minst 300 µg/g analytisk bestemt som totalt 1,25-dihydroksyvitamin-D₃, og kversetinglykosider i en konsentrasjon på minst 100 mg/g bestemt som kversetin etter syrehydrolyse, hvori framgangsmåten omfatter de følgende trinn:

a) å ekstrahere blader fra arten *Solanum glaucophyllum* ved anvendelse av en løsemiddelblanding av etanol og vann med et forhold av etanol/vann (%) på 80/20 til 50/50, eller med et forhold av etanol/vann (%) på 35/65 til 20/80 (v/v); og

b) å rense ekstrakten som oppnås ifølge trinn a), ved hjelp av trinnene:

b1) å påføre ekstrakten som er oppnådd ifølge trinn a) på en kolonne som omfatter en ikke-ionisk polymerharpiks valgt blant polystyren, styrendivinyllbenzen-kopolymerer, akrylesterpolymerer og polyfenolharpikser;

b2) å vaske kolonnen med vann;

b3) å eluere ekstrakten fra kolonnen; og

b4) å konsentrere og/eller tørke ekstrakten.

2. Framgangsmåte ifølge krav 1, hvori trinn a) omfatter trinnet å male, perkolere og/eller bløte ut tørre blader fra arten *Solanum glaucophyllum*.

3. Framgangsmåte ifølge et av kravene 1 og 2, hvori blandingen av etanol og vann har et forhold av etanol/vann (%) på 25/75 eller på 75/25 (v/v) for ekstraksjoner av perkolasjonstypen, eller på 65/35 etanol/vann (v/v) for ekstraksjoner av

utbløtingstypen.

4. Framgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 3, hvori forholdet av løsemiddelblanding/legemiddel (%) er på 9 (v/m) for ekstraksjoner av perkolasjonstypen, eller på 5 (v/m) for ekstraksjoner av utbløtingstypen.
5. Framgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 4, hvori trinn a) utføres i et temperaturintervall fra 40 °C til 60 °C, og hvori løsemiddelblandingen i trinn a) justeres til en pH-verdi på 5,5 til 6,5.
6. Framgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 5, hvori ekstrakten som er oppnådd ifølge trinn a) og/eller b) konsentreres eller tørkes til et innhold på 25–35 % ikke-flyktig materiale.
7. Framgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 6, hvori ekstrakten som er oppnådd ifølge trinn a), utsettes for en varmebehandling som omfatter mellom et minimum av 100 °C i 30 til 40 sekunder, og et maksimum av 145 °C i 2 til 10 sekunder.
8. Framgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 7, hvori den ikke-ioniske polymerharpiksen er valgt blant Amberlite-XAD-harpikser som inkluderer Amberlite XAD-1, XAD-2, XAD-4, XAD-5, XAD-7, XAD-7HP, XAD-8 og XAD-1180.
9. Framgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 8, hvori ekstrakten som er oppnådd ifølge trinn a) og/eller b), spraytørkes, båndtørkes eller lyofiliseres.
10. Planteekstrakt fra *Solanum glaucophyllum* som er oppnådd eller kan oppnås ved framgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 9, som omfatter komponentene:

Vitamin-D₃-metabolitter til stede som 1,25-dihydroksyvitamin-D₃-glykosider i en konsentrasjon på minst 300 µg/g analytisk bestemt som totalt 1,25-dihydroksyvitamin-D₃; og

kversetinglykosider i en konsentrasjon på minst 100 mg/g bestemt som kversetin etter syrehydrolyse.

11. Planteekstrakt ifølge krav 10, som er ytterligere k a r a k t e r i s e r t v e d et alkaloidinnhold på under 10 µg/g.