

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 632 507**

51 Int. Cl.:

A61K 36/16 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.02.2009 PCT/FR2009/000137**

87 Fecha y número de publicación internacional: **17.09.2009 WO09112709**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.02.2009 E 09720028 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.04.2017 EP 2249847**

54 Título: **Nuevo procedimiento para la preparación de extractos de ginkgo biloba**

30 Prioridad:

06.02.2008 FR 0800625

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

13.09.2017

73 Titular/es:

**IPSEN PHARMA S.A.S. (100.0%)
65, Quai Georges Gorse
92100 Boulogne-Billancourt, FR**

72 Inventor/es:

TENG, BEN-POON

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 632 507 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Nuevo procedimiento para la preparación de extractos de ginkgo biloba

La presente invención se refiere a un procedimiento para la preparación de un extracto de ginkgo biloba esencialmente desprovisto de contaminantes orgánicos persistentes. La presente invención se refiere también a un extracto de ginkgo biloba esencialmente desprovisto de contaminantes orgánicos persistentes, susceptible de ser obtenido mediante el procedimiento de la presente solicitud, así como su utilización en particular en el campo terapéutico.

Debido a sus actividades vasodilatadoras, antioxidantes y neuroprotectoras demostradas, los extractos de ginkgo biloba se utilizan, desde hace varios años, con fines terapéuticos y en particular en el tratamiento de trastornos circulatorios periféricos o cerebrales, la demencia o los síndromes de demencia.

La presencia de ciertos componentes no deseables tales como los ácidos ginkgólicos se reduce considerablemente a lo largo de ciertos procedimientos de extracción. Sin embargo, debido a la contaminación medioambiental actual, no se puede excluir, sea cual sea el origen de las hojas de ginkgo biloba, la presencia de contaminantes orgánicos persistentes (POP), aunque sea mínimamente. Ya que los POP son compuestos orgánicos que resisten a las degradaciones biológicas naturales (persistencia en el medio ambiente); también presentan un riesgo de producir efectos perjudiciales para la salud humana y el medio ambiente y una capacidad de acumulación en los tejidos de los organismos vivos (bioacumulación en la cadena alimentaria). Por sus propiedades de persistencia y de bioacumulación, se pueden encontrar POP muy lejos de sus lugares de emisión, transportados por las corrientes marinas o atmosféricas. Debido a su propiedad y con el objetivo de prevenir cualquier riesgo, es deseable que los índices de POP sean lo más bajos posible.

Según la presente invención, se entiende por contaminantes orgánicos persistentes (POP), los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP o PAH (*polycyclic aromatic hydrocarbons*)), los difenilos policlorados (*polychlorinated biphenyls* o PCB), las dibenzodioxinas policloradas (*polychlorinated dibenzodioxins* o PCDD) y los dibenzofuranos policlorados (*polychlorinated dibenzofurans* o PCDF). Entre los PAH, se pueden citar en particular los siguientes compuestos aromáticos: benzo(a) antraceno, criseno, trifenileno[a], benzo(b)fluoranteno, benzo(k/j)fluoranteno, benzo(a)pireno, indeno(1,2,3-cd)pireno, dibenz(ah)antraceno, benzp(ghi)perileno, dibenzo(al)-pireno, dibenzo(ai)-pireno, dibenzo-(ah)-pireno, dibenzo-(ae)-pireno, ciclopenta(cd)pireno y 5-metilcriseno. Entre los PCDD/F, se pueden citar en particular los siguientes compuestos: 2,3,7,8-tetraCDF ("CDF" = clorodibenzofurano), 1,2,3,7,8-pentaCDF, 2,3,4,7,8-pentaCDF, 1,2,3,4,7,8-hexaCDF, 1,2,3,6,7,8-hexaCDF, 1,2,3,7,8,9-hexaCDF, 2,3,4,6,7,8-hexaCDF, 1,2,3,4,6,7,8-hexaCDF, 1,2,3,4,7,8,9-heptaCDF, octaCDF, CDF y el 2,3,7,8-tetraCDD ("CDD" = clorodibenzodioxina), 1,2,3,7,8-pentaCDD, 1,2,3,4,7,8-hexaCDD, 1,2,3,6,7,8-hexaCDD, 1,2,3,7,8,9-heptaCDD, 1,2,3,4,6,7,8-heptaCDD y octaCDD. Finalmente entre los PCB, se puede citar en particular el PCB 77, PCB 81, PCB 105, PCB 114, PCB 118, PCB 123, PCB 126, PCB 156, PCB 157, PCB 167, PCB 169 y el PCB 189.

Las solicitudes KR 19890008341 y WO 02/083158 se refieren a procedimientos de extracción de hojas de ginkgo biloba para la obtención de extractos enriquecidos pero no hacen referencia alguna a una reducción de PAHs y/o de POPs. La patente EP 431535 describe un procedimiento de extracción de ginkgo biloba cuyo objetivo esencial es obtener un extracto con un índice reducido de ácidos ginkgólicos (índice inferior a 10 ppm y preferentemente a 1 ppm).

La solicitud WO 2006/117170 propone mejorar el procedimiento de preparación de la patente EP 431535 de forma que el extracto final así obtenido presenta un índice todavía más reducido de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP). Las solicitudes WO 2006/117168 y CN 20051080493 describen también procedimientos de obtención de extracto de ginkgo biloba con un índice de PAH reducido pero los PAHs no se eliminan totalmente.

La solicitante ha encontrado que los procedimientos tales como se describen en la patente EP 431535 y la solicitud WO 2006/117170 podían todavía ser mejorados de forma que el extracto final así obtenido esté esencialmente desprovisto de los POPs tales como se han definido anteriormente incluidos los HAP.

La presente invención tiene por lo tanto como objetivo un procedimiento de obtención de un extracto de hojas de ginkgo biloba esencialmente desprovisto de contaminantes orgánicos persistentes, comprendiendo dicho procedimiento las siguientes etapas:

(a) extraer las hojas (preferentemente verdes frescas o secadas) de ginkgo biloba a una temperatura de aproximadamente 40 a 100°C con acetona acuosa, un alcohol acuoso de 1 a 3 átomos de carbono o metanol anhidro;

(b) separar la mayor parte del disolvente orgánico del extracto con un contenido máximo de 10% en peso, de forma que se pueda añadir agua en el curso de las últimas etapas de destilación,

(c) diluir la disolución acuosa concentrada restante con agua hasta un contenido de materias sólidas de 5 a 25% en peso, dejar enfriar, a la vez que se agita, a una temperatura por debajo de 25°C, dejar reposar hasta que se forma un precipitado y separar el precipitado resultante, formado por componentes lipófilos que no se disuelven bien en

agua,

(d) añadir sulfato de amonio a la disolución acuosa restante y extraer la disolución formada con metil etil cetona o una mezcla de metil etil cetona y acetona.

5 (e) concentrar el extracto obtenido hasta un contenido de materias sólidas de 50 a 70% y diluir el concentrado obtenido con agua y etanol de forma que se obtenga una disolución que contiene 50% en peso de agua y 50% en peso de etanol con un contenido de materias sólidas de 10% en peso,

(f) añadir una disolución acuosa de una sal de plomo a la disolución así obtenida hasta que se produzca un cambio de color del pardo al ámbar, y separar el precipitado formado, o se utiliza una poliamida en lugar de la sal de plomo,

10 (g) extraer la disolución alcohólica acuosa restante con un disolvente alifático o cicloalifático con un punto de ebullición de 60 a 100°C con el fin de separar preferentemente los compuestos de alquilfenol,

(h) concentrar la disolución alcohólica acuosa restante a presión reducida hasta un contenido de etanol máximo de aproximadamente 5% y añadir sulfato de amonio hasta un contenido del 20% en peso,

(i) extraer la disolución obtenida con una mezcla de metil etil cetona y etanol con una proporción de 8/2 a 5/5, preferentemente de 6/4,

15 (j) concentrar la fase orgánica resultante hasta un contenido en materias sólidas de 50 a 70% en peso,

(k) añadir al concentrado obtenido de esta forma etanol hasta obtener un contenido de etanol de al menos 80%, y luego enfriar a una temperatura máxima de 12°C durante al menos dos horas y finalmente eliminar los insolubles por filtración y recuperar el filtrado;

20 (l) concentrar el filtrado y secar a presión reducida a una temperatura entre 60 a 80°C hasta la obtención de un extracto seco con un contenido en agua de menos de 5%.

caracterizado por que dicho procedimiento comprende una etapa suplementaria que consiste en hacer pasar una de las fases orgánicas obtenidas en una de las etapas d, i ó k, sobre un adsorbente que está formado por carbón activo que presenta una superficie específica superior o igual a 1.000 m²/g.

25 Según la presente invención, la utilización de adsorbente tal como se ha definido en la presente solicitud permite la supresión de compuestos no deseados tales como los POP a la vez que se mantiene el índice de componentes activos tales como flavonas y terpenos trilactonas (ginkgólidos y bilobalida).

30 La toxicidad de los POP varía según se trate de PAH o de PCDD/F y PCB. Así para los compuestos de tipo PCDD/F y PCB, se ha implementado un sistema de "equivalentes tóxicos" (TEQ): este coeficiente de ponderación indica el grado de toxicidad en relación al 2,3,7,8-TCDD (2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxina) (Van den Berg *et al.* (1998), *Environmental Health Perspectives* 106 (12), 775).

Por la expresión "extracto de ginkgo biloba esencialmente desprovisto de contaminantes orgánicos persistentes", se entiende cualquier extracto de ginkgo biloba que contiene un índice de contaminantes orgánicos persistentes muy reducido y preferentemente tales como:

35 - el índice de cada PAH es inferior a 5 µg/kg, y preferentemente a 1 µg/kg y preferentemente a 0,5 µg/kg y de forma muy preferente inferior al límite de cuantificación (LOQ), y/o

- el TEQ (PCDD/PCDF-PCB) es inferior a 10 pg/g, preferentemente a 1,5 pg/g, y de forma más preferente a 1.0 pg/g.

Preferentemente, el procedimiento anterior se caracteriza por que

en la etapa (b) el disolvente orgánico se separa con un contenido máximo del 5% en peso,

40 en la etapa (c) la disolución acuosa se diluye con agua hasta un contenido de materias sólidas de 15 a 20% en peso y se enfría a una temperatura de aproximadamente 10 a 12°C,

en la etapa (d) el sulfato de amonio se añade a la disolución para dar un contenido de 30% en peso y la disolución formada se extrae con el disolvente en una relación de 9/1 a 4/6, preferentemente de 6/4, y

45 en la etapa (f) se utiliza acetato de plomo, acetato básico de plomo o nitrato de plomo o una disolución acuosa de hidróxido de plomo.

Preferentemente también, el procedimiento anterior se caracteriza por que, en la etapa (a),

las hojas de ginkgo biloba (preferentemente secas) se extraen a una temperatura comprendida entre 50 y 65°C aproximadamente, utilizando como disolvente de extracción bien acetona acuosa con una proporción en peso

acetona/agua comprendida entre 50/50 y 65/35 y una proporción sólidos/disolvente de 1/6 a 1/20; o bien con etanol acuoso,

y de forma preferente

5 el disolvente de extracción utilizado es la acetona acuosa con una proporción en peso acetona/agua de aproximadamente 60/40.

Preferentemente también, el procedimiento anterior se caracteriza por que, en la etapa (b),

el disolvente orgánico del extracto se elimina por evaporación a presión reducida hasta un índice máximo de disolvente restante inferior a 5% y hasta obtener un contenido sólido del orden de 15 a 30%.

Preferentemente también, el procedimiento anterior se caracteriza por que, en la etapa (c),

10 la disolución acuosa concentrada restante se diluye con agua hasta obtener un contenido sólido del orden de 10 a 20% en peso y un índice máximo de disolvente restante inferior a 5%, y luego se deja enfriar con agitación a una temperatura del orden de 4-12°C durante al menos una hora.

Preferentemente también, el procedimiento anterior se caracteriza por que, en la etapa (d),

15 la disolución acuosa restante se extrae con una mezcla de metil etil cetona/acetona con una proporción en peso de aproximadamente 6/4, en presencia de 30 a 40%, y preferentemente 35%, en peso con relación al volumen de la disolución acuosa, de sulfato de amonio, y luego, después de separación de fases, se recupera la fase orgánica.

Preferentemente también, el procedimiento anterior se caracteriza por que, en la etapa (f),

20 se añade una disolución acuosa de acetato básico de plomo $(\text{CH}_3\text{CO}_2)_2\text{Pb}\cdot 2\text{Pb}(\text{OH})_2$ [CAS# 1335-32-6] a una concentración del orden de 15 a 20% a la disolución así obtenida en la etapa anterior (e), con una proporción (cantidad de Pb/contenido sólido) comprendida entre 0,15 y 0,30, y de forma muy preferida comprendida entre 0,18 y 0,25.

Preferentemente también, el procedimiento anterior se caracteriza por que, en la etapa (g), la disolución alcohólica acuosa restante se extrae con heptano.

25 Preferentemente también, el procedimiento anterior se caracteriza por que comprende una etapa suplementaria que consiste en hacer pasar la fase orgánica obtenida en la etapa d sobre un adsorbente.

Preferentemente también, el procedimiento anterior se caracteriza por que comprende una etapa suplementaria que consiste en hacer pasar la fase orgánica obtenida en la etapa i sobre un adsorbente.

Preferentemente también, el procedimiento anterior se caracteriza por que comprende una etapa suplementaria que consiste en hacer pasar la fase orgánica obtenida en la etapa k sobre un adsorbente.

30 La presente invención también tiene como objetivo un procedimiento de obtención de un extracto de hojas de ginkgo biloba esencialmente desprovisto de contaminantes orgánicos persistentes, comprendiendo dicho procedimiento las siguientes etapas:

(aa) extraer hojas secas de ginkgo biloba a una temperatura comprendida entre 40 y 100°C aproximadamente, con un disolvente de extracción elegido entre: acetona acuosa o un alcohol inferior de 3 átomos de carbono acuoso;

35 (ba) eliminar el disolvente orgánico del extracto hasta un índice máximo de disolvente restante inferior a 10%;

(ca) diluir la disolución acuosa concentrada restante con agua hasta obtener un contenido sólido del orden de 5 a 25% en peso y un índice máximo de disolvente inferior a 5%, y luego dejar enfriar con agitación a una temperatura inferior a 25°C durante al menos una hora y eliminar el precipitado así formado, consistente en compuestos lipófilos;

40 (da) extraer la disolución acuosa restante con una mezcla de metil etil cetona/acetona en presencia de sulfato de amonio, y luego, después de separación de fases, concentrar la fase orgánica hasta un contenido sólido de 40 a 60% en peso;

(ea) diluir el concentrado obtenido con etanol acuoso y agua de tal forma que la disolución final contenga aproximadamente 50% en peso de agua y 50% en peso de etanol y un contenido sólido del orden de 10-12%;

45 (fa) añadir una disolución acuosa de sales de plomo a la disolución así obtenida en la etapa (e), con una proporción (cantidad de Pb/contenido sólido) comprendida entre 0,15 y 0,3 y retirar el precipitado de plomo así formado;

(ga) extraer la disolución etanólica acuosa restante con heptano para retirar los compuestos de tipo alquilfenol y concentrar la disolución acuosa alcohólica restante a presión reducida hasta un contenido de etanol inferior al 5% en peso;

- (ha) extraer la disolución obtenida con una mezcla de metil etil cetona y etanol, en presencia de sulfato de amonio;
- (ia) añadir a la fase orgánica obtenida en la etapa anterior sulfato de amonio con agitación, y luego, después de decantación, recuperar la fase orgánica y concentrar a continuación hasta un contenido sólido del orden de 50-70% en peso;
- 5 (ja) añadir al concentrado así obtenido etanol y agua hasta obtener un contenido sólido de 10 a 12%, un contenido de etanol de aproximadamente 75 a 90%, siendo el resto agua, y luego enfriar a aproximadamente 8-12°C durante al menos una hora y finalmente eliminar los insolubles por filtración y recuperar el filtrado;
- (ka) concentrar el filtrado así obtenido a presión reducida hasta obtener un contenido sólido de 50 a 70% en peso, y secar en una estufa a vacío a una temperatura que no sobrepase 60°C;
- 10 y una etapa suplementaria que consiste en hacer pasar una de las fases orgánicas obtenidas en una de las etapas anteriores da, ia o ja, sobre un adsorbente que está formado por carbón activo que presenta una superficie específica superior o igual a 1.000 m²/g.
- Preferentemente el procedimiento anterior se caracteriza por que, en la etapa (aa),
- 15 la extracción de hojas secas de ginkgo biloba se efectúa a una temperatura comprendida aproximadamente entre 50-65°C, con como disolvente de extracción bien la acetona acuosa con una proporción en peso acetona/agua comprendida entre 50/50 y 65/35 y una proporción (hojas secas/disolvente) comprendida entre 1/6 a 1/20, o bien con etanol acuoso,
- y de forma preferente
- 20 el disolvente de extracción utilizado es la acetona acuosa con una proporción en peso acetona/agua de aproximadamente 60/40.
- Preferentemente también, el procedimiento anterior se caracteriza por que, en la etapa (ba),
- la eliminación del disolvente orgánico del extracto se efectúa por evaporación a presión reducida hasta un índice máximo de disolvente restante inferior a 5% y hasta obtener un contenido sólido del orden de 15 a 30%.
- 25 Preferentemente también, el procedimiento anterior se caracteriza por que, en la etapa (ca), la disolución acuosa concentrada restante se diluye con agua hasta obtener un contenido sólido del orden de 10 a 20% en peso, y luego se deja enfriar con agitación a una temperatura de 4-12°C,
- Preferentemente también, el procedimiento anterior se caracteriza por que, en la etapa (da),
- 30 la disolución acuosa restante se extrae con una mezcla de metil etil cetona/acetona con una proporción en peso comprendida entre 5/5 y 7/3, preferentemente de aproximadamente 6/4, en presencia de sulfato de amonio con un índice de 30 a 40%, y preferentemente 35%, en peso en relación con el volumen de la disolución acuosa.
- Preferentemente también, el procedimiento anterior se caracteriza por que, en la etapa (fa),
- la sal de plomo se elige entre el acetato de plomo, el hidróxido de plomo y el acetato básico de plomo.
- Preferentemente también, el procedimiento anterior se caracteriza por que, en la etapa (fa),
- la proporción (Pb/contenido sólido) está comprendida entre 0,18 y 0,25.
- 35 Preferentemente también, el procedimiento anterior se caracteriza por que, en la etapa (fa),
- se añade una disolución acuosa de acetato básico de plomo (CH₃CO₂)₂Pb·2Pb(OH)₂ [CAS# 1335-32-6] a una concentración del orden de 15 a 20% a la disolución obtenida en la etapa (ea), con una proporción (cantidad de Pb/contenido sólido) comprendida entre 0,18 y 0,25.
- Preferentemente también, el procedimiento anterior se caracteriza por que, en la etapa (ha),
- 40 la disolución obtenida se extrae con una mezcla de metil etil cetona y etanol con una proporción del orden de 6/4 en peso, en presencia de 30 a 40%, y preferentemente 35% en relación al volumen de la disolución acuosa, de sulfato de amonio.
- Preferentemente también, el procedimiento anterior se caracteriza por que, en la etapa (ja) se añade etanol y agua hasta obtener un contenido de etanol de aproximadamente 78 a 90%, y preferentemente 78 a 80%.
- 45 Preferentemente también, el procedimiento anterior se caracteriza por que comprende una etapa suplementaria que consiste en hacer pasar la fase orgánica obtenida en la etapa da sobre un adsorbente .

Preferentemente también, el procedimiento anterior se caracteriza por que comprende una etapa suplementaria que consiste en hacer pasar la fase orgánica obtenida en la etapa ia sobre un adsorbente.

Preferentemente también, el procedimiento anterior se caracteriza por que comprende una etapa suplementaria que consiste en hacer pasar la fase orgánica obtenida en la etapa ja sobre un adsorbente.

5 Preferentemente, los procedimientos anteriores se caracterizan por que el adsorbente comprende al menos una de las siguientes características:

- no comprende grupo funcional;
- se presenta en forma esférica (o de bolas);
- presenta una superficie específica superior o igual a 1.100 m²/g.

10 De forma muy preferente, los procedimientos anteriores se caracterizan por que el adsorbente comprende al menos dos de las características siguientes:

- no comprende grupo funcional;
- se presenta en forma esférica (o de bolas);
- presenta una superficie específica superior o igual a 1.100 m²/g.

15 De forma muy preferente también, los procedimientos anteriores se caracterizan por que el adsorbente es carbón activo, sin grupo funcional, en forma esférica (o de bolas), con una superficie esférica mínima superior o igual a 1.100 m²/g.

De forma muy preferente también, los procedimientos anteriores se caracterizan por que el adsorbente presenta un tamaño de partículas comprendido entre 0,2 y 1 mm, y preferentemente entre 0,3 y 0,9 mm.

20 De forma muy preferente también, los procedimientos anteriores se caracterizan por que el adsorbente es carbón activo, sin grupo funcional, en forma esférica (o de bolas), de diámetro comprendido entre 0,4 y 0,8 mm, con una superficie específica mínima superior o igual a 1.200 m²/g con diámetros de poro de aproximadamente 8 nm y volúmenes de poro de aproximadamente 0,15 cm³/g.

25 Según la presente invención, el adsorbente puede estar en forma esférica (o en forma de bolas); presenta por lo tanto una forma regular. Para el experto en la técnica, esta forma esférica (o "bead") se distingue de los adsorbentes de tipo granular ("*granular*") con una superficie y/o una forma irregular, o bien de los adsorbentes que se presentan en forma cilíndrica ("*pellet*" o "*rod*") obtenidos por extrusión.

30 El adsorbente según la presente invención es carbón activo. El carbón activo es natural o sintético según la naturaleza del producto de partida utilizado para prepararlo. El carbón activo de origen natural se puede producir a partir de cualquier materia orgánica natural rica en carbono tal como la madera, las cortezas, las cáscaras de nuez de coco, los huesos de aceituna o bien los residuos petrolíferos. El carbón activo de origen sintético se puede producir a partir de cualquier materia orgánica sintética rica en carbono tal como el estireno, que se somete a pirólisis en condiciones controladas, preferentemente en atmósfera inerte tal como el nitrógeno y a temperatura elevada.

35 Se puede preparar carbón activo en forma esférica a partir de bolas preconformadas del producto de partida.

Así, se puede preparar carbón activo sintético en forma esférica a partir de bolas preconformadas del producto de partida.

Preferentemente, el carbón activo utilizado según la presente invención es un carbón activo sintético.

40 La presente invención también tiene como objetivo un extracto de ginkgo biloba esencialmente desprovisto de contaminantes orgánicos persistentes y susceptible de obtenerse según procedimientos tales como se han descrito anteriormente.

Preferentemente, el extracto tal como se ha definido anteriormente, esencialmente desprovisto de contaminantes orgánicos persistentes, comprende

- 20 a 30 % en peso de flavonas glicosiladas,
- 45 - 2,5 a 4,5% en peso total de ginkgólidos A, B, C y J (en total),
- 2,0 a 4,0% en peso de bilobalida,
- menos de 10 ppm de alquilfenoles y menos de 10% en peso de proantocianidinas;

y de forma muy preferida

- 22 a 26 % en peso de flavonas glicosiladas,
- 2,5 a 4,5% en peso total de ginkgólidos A, B, C y J,
- 2,0 a 4,0% en peso de bilobalida,

- 5 - menos de 1 ppm de alquilfenoles y menos de 10% en peso de proantocianidinas;

Preferentemente también, el extracto tal como se ha definido anteriormente, esencialmente desprovisto de contaminantes orgánicos persistentes, comprende

- 20 a 30 % en peso de flavonas glicosiladas,
- 2,5 a 4,5% en peso total de ginkgólidos A, B y C,

- 10 - 2,0 a 4,0% en peso de bilobalida,
- menos de 10 ppm de alquilfenoles y menos de 10% en peso de proantocianidinas;

De forma muy preferente, los extractos tal como se han definido anteriormente, comprenden un índice de contaminantes orgánicos persistentes tal que

- 15 - el índice de cada PAH es inferior a 5 µg/kg, preferentemente a 1 µg/kg y de forma muy preferente a 0,5 µg/kg, y/o
- el TEQ (PCDD/PCDF-PCB) es inferior a 10 pg/g, preferentemente a 1,5 pg/g;

y de forma muy preferente,

- el índice de cada PAH es inferior al límite de cuantificación (LOQ), y/o
- el TEQ (PCDD/PCDF-PCB) es inferior a 1,0 pg/g.

- 20 Un extracto de ginkgo biloba según la presente invención se puede utilizar como principio activo de composición terapéutica o bien como aditivo alimentario. Las composiciones a base de dicho extracto pueden estar en forma de polvo, gránulos, comprimidos o cápsulas.

- 25 La presente invención tiene también como objetivo la utilización de un extracto tal como se ha definido anteriormente para la preparación de un medicamento para el tratamiento de trastornos circulatorios periféricos o cerebrales, demencia o síndromes de demencia.

La presente invención tiene también como objetivo una composición terapéutica que contiene, a modo de principio activo, un extracto tal como se ha definido anteriormente, en asociación con excipientes terapéuticos aceptables.

- 30 En ausencia de otra precisión, las proporciones y los porcentajes mencionados en la presente solicitud son proporciones peso/peso y porcentajes en peso. Naturalmente, las temperaturas de realización de las diferentes etapas del procedimiento son inferiores a las temperaturas de ebullición de los disolventes orgánicos utilizados, y preferentemente al menos 5°C por debajo de la temperatura de ebullición.

Parte experimental

Ejemplo 1: Preparación de un extracto de ginkgo biloba

- 35 Se extraen 2 kg de hojas secas de ginkgo biloba dos veces, a una temperatura de aproximadamente 60°C, con acetona/agua (60/40 en peso) y utilizando cada vez 10 veces más de disolvente (peso/peso).

El disolvente orgánico se elimina por evaporación hasta obtener un contenido sólido de aproximadamente 35%.

La disolución acuosa concentrada restante se diluye a la mitad con agua hasta obtener un contenido sólido del orden de 17% en peso, y luego se deja enfriar con agitación a una temperatura de aproximadamente 10-12°C durante al menos una hora y se elimina el precipitado así formado.

- 40 La disolución acuosa restante se extrae con una mezcla de metil etil cetona/acetona (6/4 en peso) en presencia de 35% (en peso) de sulfato de amonio, y luego después de separación de fases, de nuevo se extrae con una mezcla de metil etil cetona/acetona (6/4 en peso) antes de ser concentrada hasta un contenido sólido de 50 a 60% en peso.

- 45 El concentrado obtenido se diluye con agua y etanol hasta una proporción en peso (contenido sólido/etanol/agua) de (10/45/45). A la disolución así obtenida, se le añade entonces una disolución acuosa de acetato básico de plomo (CH₃CO₂)₂Pb.2Pb(OH)₂ [CAS# 1335-32-6] al 16% con una proporción en volumen (disolución plomo/disolución

etanólica) de (16/100); el precipitado de plomo así formado se retira por centrifugación.

El sobrenadante etanólico acuoso recuperado se extrae tres veces con heptano, cada vez con 1/3 del volumen total, con el fin de retirar los compuestos de tipo alquilfenol y la disolución acuosa alcohólica restante se concentra a presión reducida hasta un contenido de etanol inferior a 5% en peso.

5 La disolución acuosa restante se extrae con una mezcla de metil etil cetona/etanol (6/4 en peso) en presencia de 35% (en peso) de sulfato de amonio, y luego, después de separación de fases, de nuevo se extrae con una mezcla de metil etil cetona/acetona (6/4 en peso); las fases orgánicas se reúnen y se pasan por una columna de carbón activo Lewatit AF5 (10 g).

10 A la fase orgánica obtenida en la etapa anterior se añaden de nuevo 20% (en peso) de sulfato de amonio con agitación y luego, después de decantación, se recupera la fase orgánica y se concentra hasta un contenido sólido del orden de 50-70% en peso.

15 Al concentrado así obtenido se le añade a continuación etanol a más de 90% de agua hasta una proporción en peso (contenido sólido/etanol/agua) de (12/78/10), y luego se enfría a aproximadamente 8-12°C durante al menos tres horas. Se filtran a continuación los insolubles y el filtrado se concentra a presión reducida y luego se seca en una estufa al vacío hasta obtener un contenido sólido de más de 98% en peso.

Ejemplo 2: Reducción del índice de POPs por paso sobre adsorbente

Se han preparado diferentes disoluciones orgánicas de un extracto de ginkgo biloba deliberadamente contaminadas con POPs y luego se han pasado sobre un adsorbente.

i) Preparación de disoluciones de extracto de ginkgo biloba

20 Se han preparado disoluciones de extracto estandarizado de ginkgo biloba (EGb 761®) en tres disolventes diferentes y se han contaminado deliberadamente con POPs.

Disolución Nº 1: 120 g de extracto seco en 1.440 ml de una mezcla de metil etil cetona/etanol (6/4 en peso) y que contiene 22% en peso de agua; la disolución así obtenida se divide en 2 volúmenes iguales.

25 Disolución Nº 2: 60 g de extracto seco en 720 ml de una mezcla de metil etil cetona/acetona (6/4 en peso) y que contiene 20% en peso de agua;

Disolución Nº 3: 60 g de extracto seco en 720 ml de etanol acuoso (88% en peso).

Sea cual sea la disolución, el nivel de contaminación deseado así como el límite de cuantificación son los siguientes:

Contaminantes añadidos	Nivel de contaminación deseado	Límite de cuantificación
PAH	20 µg/kg	< 0,5 µg/kg
PCDD/PCDF	200 ng/kg	< 0,1 a 0,4 ng/kg
PCB	200 ng/kg	< 0,5 a 30 ng/kg
* proveedores Supelco y Well-Labs		

30 Para los PAH, los contaminantes utilizados son los siguientes: benzo(a) antraceno, criseno, trifenileno[a], benzo(b)fluoranteno, benzo(k/j)fluoranteno, benzo(a)pireno, indeno(1,2,3-cd)pireno, dibenz(ah)antraceno, benzo(ghi)perileno, dibenzo(al)-pireno, dibenzo-(ai)-pireno, dibenzo-(ah)-pireno, dibenzo-(ae)-pireno, ciclopenta(cd)pireno y 5-metilcriseno. Los resultados se recogen en la tabla 1.

35 Para los PCDD/F, los contaminantes utilizados son los siguientes: 2,3,7,8-tetraCDF, 1,2,3,7,8-pentaCDF, 2,3,4,7,8-pentaCDF, 1,2,3,4,7,8-hexaCDF, 1,2,3,6,7,8-hexaCDF, 1,2,3,7,8,9-hexaCDF, 2,3,4,6,7,8-hexaCDF, 1,2,3,4,6,7,8-heptaCDF, 1,2,3,4,7,8,9-heptaCDF, octaCDF, 2,3,7,8-tetraCDD, 1,2,3,7,8-pentaCDD, 1,2,3,4,7,8-hexaCDD, 1,2,3,6,7,8-hexaCDD, 1,2,3,7,8,9-hexaCDD, 1,2,3,4,6,7,8-heptaCDD y octaCDD. Los resultados se recogen en la tabla 2.

Para los PCB, los contaminantes utilizados son los siguientes: PCB 77, PCB 81, PCB 105, PCB 114, PCB 118, PCB 123, PCB 126, PCB 156, PCB 157, PCB 167, PCB 169 y el PCB 189. Los resultados se recogen en la tabla 3.

40 *ii) Paso de las disoluciones contaminadas sobre un adsorbente*

Las disoluciones contaminadas se pasan sobre el adsorbente Lewatit AF5® (carbón activo sintético sin grupo funcional, en forma esférica, con una superficie específica mínima de 1.200 m²/g, y en el que al menos 90% de las

partículas presentan un tamaño entre 0,4 y 0,8 mm, y llamado en adelante "AF5"): las disoluciones se pasan 3 veces sobre una columna (diámetro interno 1 cm, altura de lecho 20 cm) que contiene 10 g de AF5.

La proporción en peso entre el extracto seco y el adsorbente utilizado es de aproximadamente 6 a 1.

iii) *Resultados*

5 Los resultados obtenidos se recogen en las tablas 1, 2 y 3 siguientes (los valores se redondean al máximo a 3 cifras después de la coma).

Las leyendas utilizadas son las siguientes:

< 0,5: significa que el límite indicado de cuantificación (LOQ) es de 0,5 y que la concentración encontrada es inferior a este límite.

10 ND: significa No Determinado ya que ninguno de los congéneres está por encima del LOQ.

TEQ excl.LOQ[a] = valor del TEQ calculado incluyendo solamente los congéneres cuantificados.

TEQ incl.LOQ[b] = valor del TEQ calculado incluyendo los congéneres cuantificados tomando los valores de su LOQ.

Los resultados muestran que el paso sobre el adsorbente reduce el índice de POP con un índice inferior al límite de cuantificación.

15 **Ejemplo 3: Ejemplo de referencia**

Los ejemplos 3a y 3b siguientes ilustran la utilización de otro adsorbente y/o disolventes diferentes a los utilizados en los ejemplos anteriores. La proporción en peso entre el extracto seco y el adsorbente utilizado es aproximadamente de 6 a 1.

Ejemplo 3a: Utilización de una resina sintética

20 Se utiliza una resina sintética con la disolución N° 2 tal como se ha definido en el ejemplo 2 anterior.

Las características de esta resina son las siguientes: resina Lewatit® VP OC 1163, sin grupo funcional, a base de poliestirenos reticulados, en forma esférica, con una superficie específica superior a 1.300 m²/g; con un tamaño de partículas comprendido entre 0,45 y 0,55 mm.

25 El protocolo experimental (contaminación, paso de la disolución sobre el adsorbente) es idéntico al descrito en el ejemplo 2.

Los resultados obtenidos se recogen en la tabla 4 siguiente (los valores se han redondeado al máximo de 3 cifras después de la coma).

30 Estos resultados muestran que después del paso sobre la resina, aproximadamente 25 a 70% de los PAHs añadidos se quedan en el extracto mientras que el paso sobre el adsorbente Lewatit AF5® (cf. ejemplo 1) reduce el índice de POP a un índice inferior al límite de cuantificación.

Ejemplo 3b:

El carbón activo utilizado es idéntico al del ejemplo 2 (Lewatit AF5®) con una disolución N°4.

35 Disolución N° 4: 120 g de un extracto seco en 1.440 ml de n-butanol y que contiene 20% en peso de agua; la disolución así obtenida se filtra, se añaden los POPs al filtrado y el volumen total se divide en 2 volúmenes iguales, de los que uno se utiliza como control y el otro se pasa sobre el adsorbente Lewatit AF5®.

El protocolo experimental (contaminación, paso de la disolución sobre el adsorbente) es idéntico al descrito en el ejemplo 2.

Los resultados obtenidos se recogen en la tabla 5 siguiente (los valores se han redondeado al máximo de 3 cifras después de la coma).

40 Con dicho adsorbente, los resultados muestran que después del paso sobre éste, aproximadamente 3 a 9% de los PAHs añadidos, 1 a 12% de los PCDD/PCDF añadidos y 27 a 46% de los PCBs añadidos se quedan en el extracto mientras que el paso sobre el adsorbente Lewatit AF5® (cf. ejemplo 2) reduce el índice de POP con un índice inferior al límite de cuantificación.

45 Los resultados así obtenidos muestran que después del paso sobre este carbón activo pero con n-butanol como disolvente, aproximadamente 10 a 30% de los PCDD/PCDF añadidos y 20 a 30% de los PCBs añadidos se quedan en el extracto mientras que el paso sobre este mismo adsorbente (cf. ejemplo 2) pero con disolventes tales como los

utilizados en el ejemplo 2, reduce el índice de POP a un índice inferior al límite de cuantificación.

5 Los disolventes utilizados en el ejemplo 2, es decir metil etil cetona, etanol, acetona, agua o mezclas de estos últimos, presentan un índice de polaridad (o PI (*Polarity Index*), cf. *Modern Methods of Pharmaceutical Analysis* por Roger E. Shimer, Volumen II, página 305 teniendo como referencia el valor de 9 para el índice de polaridad del agua) comprendido entre 5 y 6. El n-butanol es menos polar con un índice de polaridad de 4,8, es decir fuera del rango 5-6.

10 En su obra, Shimer precisa que aunque la polaridad de un disolvente para una mezcla de disolvente no depende de forma lineal de la composición, la aproximación lineal es suficientemente exacta para permitir su utilización para estimar el índice de polaridad de las mezclas. Así el índice de polaridad de una mezcla se puede calcular como la suma de los productos de las fracciones en volumen y de los índices de polaridad de cada disolvente que constituye la mezcla.

Para una mezcla de disolventes A y B cuyas fracciones en volumen en relación a la mezcla son V_A y V_B y los índices de polaridad son respectivamente I_A e I_B para los disolventes A y B puros, el índice de polaridad de la mezcla es por lo tanto $V_{A}I_A + V_{B}I_B$.

15 Tabla 1: Medida de los PAH

Adsorbente utilizado	Disolución Nº 1	Disolución Nº 1	Disolución Nº 2	Disolución Nº 3
	Ninguno	AF 5	AF 5	AF 5
	µg/Kg	µg/Kg	µg/Kg	µg/Kg
1 Benzo(a) antraceno	24	< 0,5	< 0,5	< 0,5
2 Criseno/Trifenileno([a]	24	< 0,5	< 0,5	< 0,5
3 Benzo(b)fluoranteno	29	< 0,5	< 0,5	< 0,5
4 Benzo(k/j)fluoranteno	34	< 0,5	< 0,5	< 0,5
5 Benzo(a)pireno	26	< 0,5	< 0,5	< 0,5
6 Indeno (1,2,3-cd)pireno	25	< 0,5	< 0,5	< 0,5
7 Dibenz(ah)antraceno	25	< 0,5	< 0,5	< 0,5
8 Benzo(ghi)perileno	26	< 0,5	< 0,5	< 0,5
9 Dibenzo(al)-pireno	13	< 1	< 1	< 1
10 Dibenzo(ai)-pireno	9,7	< 1	< 1	< 1
11 Dibenzo(ah)-pireno	7,4	< 1	< 1	< 1
12 Dibenzo(ae)-pireno	8,1	< 1	< 1	< 1
13 Ciclopenta(cd)pireno	13	< 1	< 1	< 1
14 5-Metilcriseno	14	< 1	< 1	< 1

Tabla 2: Medida de los PCDD/F

	Disolución N° 1	Disolución N° 1	Disolución N° 2	Disolución N° 3
Adsorbente utilizado	Ninguno	AF 5	AF 5	AF 5
PCDD/F	pg/g	pg/g	pg/g	pg/g
2,3,7,8-TetraCDF	26	<0,09	<0,09	<0,11
1,2,3,7,8-PentaCDF	1124	<0,12	<0,13	<0,14
2,3,4,7,8-PentaCDF	114	<0,12	<0,13	<0,14
1,2,3,4,7,8-HexaCDF	101	<0,11	<0,12	<0,13
1,2,3,6,7,8-HexaCDF	80,2	<0,11	<0,12	<0,13
1,2,3,7,8,9-HexaCDF	122	<0,11	<0,12	<0,13
2,3,4,6,7,8-HexaCDF	99,8	<0,11	<0,12	<0,13
1,2,3,4,6,7,8-HeptaCDF	81,7	<0,11	<0,11	<0,13
1,2,3,4,7,8,9-HeptaCDF	102	<0,11	<0,11	<0,13
OctaCDF	186	<0,042	<0,44	<0,50
2378-TetraCDD	122	<0,05	<0,05	<0,06
1,2,3,7,8-PentaCDD	113	<0,07	<0,07	<0,08
1,2,3,4,7,8-HexaCDD	98,3	<0,13	<0,14	<0,16
1,2,3,6,7,8-HexaCDD	91,8	<0,13	<0,14	<0,16
1,2,3,7,8,9-HexaCDD	133	<0,13	<0,14	<0,16
1,2,3,4,6,7,8-HeptaCDD	87,9	<0,09	<0,09	<0,11
OctaCDD	160	0,31	0,25	0,31
OMS(2005)-PCDD/F-TEQ excl.LOQ[a]	350	0,00009	0,00008	0,00009
OMS(2005)-PCDD/F-TEQ incl.LOQ[b]	350	0,255	0,268	0,305

Tabla 3: Medida de los PCB

	Disolución N° 1	Disolución N° 1	Disolución N° 2	Disolución N° 3
Adsorbente utilizado	Ninguno	AF 5	AF 5	AF 5
OMS-PCB	pg/g	pg/g	pg/g	pg/g
TetraCB (# 77)	118	<2,80	<2,95	<3,35
TetraCB (# 81)	111	<0,56	<0,59	<0,67
PentaCB (# 105)	112	<11,2	<11,8	<13,4
PentaCB (# 114)	95,8	<1,2	1,35	<1,34
PentaCB (# 118)	128	<30,8	<32,4	<36,8
PentaCB (# 123)	104	<2,80	<2,95	<3,35
PentaCB (# 126)	108	<0,42	<0,44	<0,50
HexaCB (# 156)	91,4	<5,60	<5,90	<6,70
HexaCB (# 157)	91,7	<2,8	<2,95	<3,35
HexaCB (# 167)	88,5	<2,8	<2,95	<3,35
HexaCB (# 169)	87,1	<0,70	<0,74	<0,84
HexaCB (# 189)	77,3	<2,8	<2,95	<3,35
PCB-TECQ				
OMS(2005)-PCB-TEQ excl.LOQ[a]	13,5	ND	0,00004	ND
OMS(2005)-PCB-TEQ incl.LOQ[b]	13,5	0,065	0,069	0,078
PCDD/F-PCB-TEQ:				
OMS(2005)-PCDD/F-PCB-TEQ excl.LOQ[a]	363,5	0,00009	0,00012	0,00009
OMS(2005)-PCDD/F-PCB-TEQ incl.LOQ[b]	363,5	0,320	0,337	0,383

Tabla 4 (Ejemplo 3a):

	Sin paso sobre el adsorbente	Después de paso sobre el adsorbente	% restante en el extracto
PAHs	µg/kg	µg/kg	
Fluoreno	<0,5	7,2	
Fenantreno	9	2,3	25,6
Antraceno	4,9	3,4	69,4
Fluoranteno	3,4	1,4	41,2
Pireno	13	8,9	68,5
Benz(a)antraceno	12	8,0	66,7
Criseno/Trifenileno[a]	13	7,9	60,8
Benzo(b)fluoranteno	13	6,3	48,5

ES 2 632 507 T3

Benzo(k)fluoranteno	12	6,5	54,2
Benzo(a)pireno	11	5,9	53,6
Dibenz(ah)antraceno	12	5,9	49,2
Benzo(ghi)perileno	11	4,8	43,6
Indeno(1,2,3-cd)pireno	12	5,1	42,5
Total PAH excl.LOQ[b]	126,3	73,6	
Total PAH incl.LOQ[c]	126,8	73,6	

Tabla 5 (Ejemplo 3d):

	Sin paso sobre el adsorbente	Después de paso sobre el adsorbente	% restante en el extracto
PCDD/F	ng/kg	ng/kg	
2378-TetraCDF	3,69	0,42	11
12378-PentaCDF	12,7	1,51	12
23478-PentaCDF	13,6	2,58	19
123478-HexaCDF	11,7	3,14	27
123678-HexaCDF	9,58	2,41	25
123789-HexaCDF	14,1	1,47	10
234678-HexaCDF	12,1	3,3	27
1234678-HeptaCDF	8,64	2,66	31
1234789-HeptaCDF	12,2	2,47	20
OctaCDF	21,5	5,66	26
2378-TetraCDD	16,5	3,06	19
12378-PentaCDD	12,8	2,07	16
123478-HexaCDD	12,2	3,05	25
123678-HexaCDD	12,1	2,57	21
123789-HexaCDD	11,3	1,83	16
1234678-HeptaCDD	10,9	2,71	25
OctaCDD	18,3	5,41	30
WHO-PCB			
TetraCB (#77)	23,1	5,04	22
TetraCB (#81)	18,1	4,71	26
PentaCB (#105)	16,8	<11,6	
PentaCB (#114)	15,7	5,42	35
PentaCB (#118)	<39,1	<41,3	
PentaCB (#123)	17,8	5,66	32

ES 2 632 507 T3

PentaCB (#126)	17,6	3,68	21
HexaCB (#156)	14,3	<7,68	
HexaCB (#157)	13,5	5,24	39
HexaCB (#167)	15,4	5,45	35
HexaCB (#169)	13,9	3,94	28
HexaCB (#189)	11,8	4,28	36

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento de obtención de un extracto de hojas de ginkgo biloba esencialmente desprovisto de contaminantes orgánicos persistentes, comprendiendo dicho procedimiento las siguientes etapas:
- 5 (a) extraer las hojas de ginkgo biloba a una temperatura de aproximadamente 40 a 100°C con acetona acuosa, un alcohol acuoso de 1 a 3 átomos de carbono o metanol anhidro;
- (b) separar la mayor parte del disolvente orgánico del extracto con un contenido máximo de 10% en peso, de forma que se pueda añadir agua en el curso de las últimas etapas de destilación,
- 10 (c) diluir la disolución acuosa concentrada restante con agua hasta un contenido de materias sólidas de 5 a 25% en peso, dejar enfriar, a la vez que se agita, a una temperatura por debajo de 25°C, dejar reposar hasta que se forma un precipitado y separar el precipitado resultante, formado por componentes lipófilos que no se disuelven bien en agua,
- (d) añadir sulfato de amonio a la disolución acuosa restante y extraer la disolución formada con metil etil cetona o una mezcla de metil etil cetona y acetona.
- 15 (e) concentrar el extracto obtenido hasta un contenido de materias sólidas de 50 a 70% y diluir el concentrado obtenido con agua y etanol de forma que se obtenga una disolución que contiene 50% en peso de agua y 50% en peso de etanol con un contenido de materias sólidas de 10% en peso,
- (f) añadir una disolución acuosa de una sal de plomo a la disolución así obtenida hasta que se produzca un cambio de color del pardo al ámbar, y separar el precipitado formado, o se utiliza una poliamida en lugar de la sal de plomo,
- 20 (g) extraer la disolución alcohólica acuosa restante con un disolvente alifático o cicloalifático con un punto de ebullición de 60 a 100°C con el fin de separar preferentemente los compuestos de alquilfenol,
- (h) concentrar la disolución alcohólica acuosa restante a presión reducida hasta un contenido de etanol máximo de aproximadamente 5% y añadir sulfato de amonio hasta un contenido del 20% en peso,
- (i) extraer la disolución obtenida con una mezcla de metil etil cetona y etanol con una proporción de 8/2 a 5/5, preferentemente de 6/4,
- 25 (j) concentrar la fase orgánica resultante hasta un contenido en materias sólidas de 50 a 70% en peso,
- (k) añadir al concentrado obtenido de esta forma etanol hasta obtener un contenido de etanol de al menos 80%, y luego enfriar a una temperatura máxima de 12°C durante al menos dos horas y finalmente eliminar los insolubles por filtración y recuperar el filtrado;
- 30 (l) concentrar el filtrado y secar a presión reducida a una temperatura entre 60 a 80°C hasta la obtención de un extracto seco con un contenido en agua de menos de 5%.
- caracterizado por que dicho procedimiento comprende una etapa suplementaria que consiste en hacer pasar una de las fases orgánicas obtenidas en una de las etapas d, i ó k, sobre un adsorbente que está formado por carbón activo sintético, que presenta una superficie específica superior o igual a 1.000 m²/g, con un disolvente o una mezcla de disolventes cuya polaridad está comprendida entre 5 y 6.
- 35 2. Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado por que
- en la etapa (b) el disolvente orgánico se separa con un contenido máximo del 5% en peso,
- en la etapa (c) la disolución acuosa se diluye con agua con un contenido de materias sólidas de 15 a 20% en peso y se enfría a una temperatura de aproximadamente 10 a 12°C,
- 40 en la etapa (d) se añade sulfato de amonio a la disolución para dar un contenido de 30% en peso y la disolución formada se extrae con el disolvente en una relación de 9/1 a 4/6, preferentemente de 6/4, y
- en la etapa (f) se utiliza acetato de plomo, acetato básico de plomo o nitrato de plomo o una disolución acuosa de hidróxido de plomo.
3. Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado por que, en la etapa (a),
- 45 las hojas de ginkgo biloba se extraen a una temperatura comprendida entre 50 y 65°C aproximadamente, utilizando como disolvente de extracción bien acetona acuosa con una proporción en peso acetona/agua comprendida entre 50/50 y 65/35 y una proporción sólidos/disolvente de 1/6 a 1/20; o bien etanol acuoso,
4. Procedimiento según la reivindicación 3, caracterizado por que, en la etapa (a),

el disolvente de extracción utilizado es acetona acuosa con una proporción en peso acetona/agua de aproximadamente 60/40.

5. Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado por que, en la etapa (b),

5 el disolvente orgánico del extracto se elimina por evaporación a presión reducida hasta un índice máximo de disolvente restante inferior a 5% y hasta obtener un contenido sólido del orden de 15 a 30%.

6. Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado por que, en la etapa (c),

la disolución acuosa concentrada restante se diluye con agua hasta obtener un contenido sólido del orden de 10 a 20% en peso y un índice máximo de disolvente restante inferior a 5%, y luego se deja enfriar con agitación a una temperatura del orden de 4-12°C durante al menos una hora.

10 7. Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado por que, en la etapa (d),

la disolución acuosa restante se extrae con una mezcla de metil etil cetona/acetona con una proporción en peso de aproximadamente 6/4, en presencia de 30 a 40%, y preferentemente 35%, en peso con relación al volumen de la disolución acuosa, sulfato de amonio, y luego, después de separación de fases, se recupera la fase orgánica.

8. Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado por que, en la etapa (f),

15 se añade una disolución acuosa de acetato básico de plomo $(\text{CH}_3\text{CO}_2)_2\text{Pb} \cdot 2\text{Pb}(\text{OH})_2$ a una concentración del orden de 15 a 20% a la disolución así obtenida en la etapa anterior (e), con una proporción (cantidad de Pb/contenido sólido) comprendida entre 0,15 y 0,30.

9. Procedimiento según la reivindicación 8, caracterizado por que la proporción de (Pb/contenido sólido) está comprendida entre 0,18 y 0,25.

20 10. Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado por que en la etapa (g) la disolución alcohólica acuosa restante se extrae con heptano.

11. Procedimiento según una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que dicho procedimiento comprende una etapa suplementaria que consiste en hacer pasar la fase orgánica obtenida en la etapa d sobre un adsorbente.

25 12. Procedimiento según una de las reivindicaciones 1 a 10, caracterizado por que dicho procedimiento comprende una etapa suplementaria que consiste en hacer pasar la fase orgánica obtenida en la etapa i sobre un adsorbente .

13. Procedimiento según una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que dicho procedimiento comprende una etapa suplementaria que consiste en hacer pasar la fase orgánica obtenida en la etapa k sobre un adsorbente .

30 14. Procedimiento de obtención de un extracto de hojas de ginkgo biloba esencialmente desprovisto de contaminantes orgánicos persistentes, caracterizado dicho procedimiento por que comprende las siguientes etapas:

(aa) extraer hojas secas de ginkgo biloba a una temperatura comprendida entre 40 y 100°C aproximadamente, con un disolvente de extracción elegido entre: la acetona acuosa o un alcohol inferior de 3 átomos de carbono acuoso;

(ba) eliminar el disolvente orgánico del extracto hasta un índice máximo de disolvente restante inferior a 10%;

35 (ca) diluir la disolución acuosa concentrada restante con agua hasta obtener un contenido sólido del orden de 5 a 25% en peso y un índice máximo de disolvente restante inferior a 5%, y luego dejar enfriar con agitación a una temperatura inferior a 25°C durante al menos una hora y eliminar el precipitado así formado, consistente en compuestos lipófilos;

40 (da) extraer la disolución acuosa restante con una mezcla de metil etil cetona/acetona en presencia de sulfato de amonio, y luego, después de separación de fases, concentrar la fase orgánica hasta un contenido sólido de 40 a 60% en peso;

(ea) diluir el concentrado obtenido con etanol acuoso y agua de tal forma que la disolución final contenga aproximadamente 50% en peso de agua y 50% en peso de etanol y un contenido sólido del orden de 10-12%;

45 (fa) añadir una disolución acuosa de sales de plomo a la disolución así obtenida en la etapa (e), con una proporción (cantidad de Pb/contenido sólido) comprendida entre 0,15 y 0,3 y retirar el precipitado de plomo así formado;

(ga) extraer la disolución etanólica acuosa restante con heptano para retirar los compuestos de tipo alquilfenol y concentrar la disolución acuosa alcohólica restante a presión reducida hasta un contenido de etanol inferior al 5% en peso;

- (ha) extraer la disolución obtenida con una mezcla de metil etil cetona y etanol, en presencia de sulfato de amonio;
- (ia) añadir a la fase orgánica obtenida en la etapa anterior sulfato de amonio con agitación, y luego, después de decantación, recuperar la fase orgánica que se concentra a continuación hasta un contenido sólido del orden de 50-70% en peso;
- 5 (ja) añadir al concentrado así obtenido etanol y agua hasta obtener un contenido sólido de 10 a 12%, un contenido de etanol de aproximadamente 75 a 90%, siendo el resto agua, y luego enfriar a aproximadamente 8-12°C durante al menos una hora y finalmente eliminar los insolubles por filtración y recuperar el filtrado;
- (ka) concentrar el filtrado así obtenido a presión reducida hasta obtener un contenido sólido de 50 a 70% en peso, y secar en una estufa al vacío a una temperatura que no sobrepase 60°C;
- 10 y una etapa suplementaria que consiste en hacer pasar una de las fases orgánicas obtenidas en una de las etapas anteriores da, ia o ja, sobre un adsorbente que está formado por carbón activo sintético, que presenta una superficie específica superior o igual a 1.000 m²/g, con un disolvente o mezcla de disolventes cuya polaridad esté comprendida entre 5 y 6.
15. Procedimiento según la reivindicación 14, caracterizado por que en la etapa (aa),
- 15 la extracción de hojas secas de ginkgo biloba se efectúa a una temperatura comprendida entre 50-65°C aproximadamente, utilizando como disolvente de extracción bien acetona acuosa con una proporción en peso acetona/agua comprendida entre 50/50 y 65/35 y una proporción (hojas secas/disolvente) comprendida entre 1/6 a 1/20, o bien con etanol acuoso.
16. Procedimiento según la reivindicación 15, caracterizado por que en la etapa (aa),
- 20 el disolvente de extracción utilizado es acetona acuosa con una proporción en peso acetona/agua de aproximadamente 60/40.
17. Procedimiento según la reivindicación 14, caracterizado por que en la etapa (ba),
- la eliminación del disolvente orgánico del extracto se efectúa por evaporación a presión reducida hasta un índice máximo de disolvente restante inferior a 5% y hasta obtener un contenido sólido del orden de 15 a 30%.
- 25 18. Procedimiento según la reivindicación 14, caracterizado por que en la etapa (ca),
- la disolución acuosa concentrada restante se diluye con agua hasta obtener un contenido sólido del orden de 10 a 20% en peso, y luego se deja enfriar con agitación a una temperatura de 4-12°C,
19. Procedimiento según la reivindicación 14, caracterizado por que en la etapa (da),
- 30 la disolución acuosa restante se extrae con una mezcla de metil etil cetona/acetona con una proporción en peso comprendida entre 5/5 y 7/3, preferentemente de aproximadamente 6/4, en presencia de sulfato de amonio con un índice de 30 a 40%, y preferentemente 35%, en peso con relación al volumen de la disolución acuosa.
20. Procedimiento según la reivindicación 14, caracterizado por que en la etapa (fa),
- la sal de plomo se elige entre el acetato de plomo, el hidróxido de plomo y el acetato básico de plomo.
21. Procedimiento según la reivindicación 14 ó 20, caracterizado por que la proporción (Pb/contenido sólido) está comprendida entre 0,18 y 0,25.
- 35 22. Procedimiento según la reivindicación 14 ó 20, caracterizado por que en la etapa (fa),
- una disolución acuosa de acetato básico de plomo (CH₃CO₂)₂Pb·2Pb(OH)₂ con una concentración del orden de 15 a 20% es añadida a la disolución obtenida en la etapa (ea), con una proporción (cantidad de Pb/contenido sólido) comprendida entre 0,18 y 0,25.
- 40 23. Procedimiento según la reivindicación 14, caracterizado por que en la etapa (ha),
- la disolución obtenida se extrae con metil etil cetona y etanol con una proporción del orden de 6/4 en peso, en presencia de 30 a 40%, y preferentemente 35% en relación al volumen de la disolución acuosa, de sulfato de amonio.
24. Procedimiento según la reivindicación 14, caracterizado por que en la etapa (ja), se añade etanol y agua hasta obtener un contenido de etanol de aproximadamente 78 a 90%.
- 45 25. Procedimiento según una de las reivindicaciones 14 a 24, caracterizado por que dicho procedimiento comprende una etapa suplementaria que consiste en hacer pasar la fase orgánica obtenida en la etapa da sobre un adsorbente.

26. Procedimiento según una de las reivindicaciones 14 a 24, caracterizado por que dicho procedimiento comprende una etapa suplementaria que consiste en hacer pasar la fase orgánica obtenida en la etapa ia sobre un adsorbente.
27. Procedimiento según una de las reivindicaciones 14 a 24, caracterizado por que dicho procedimiento comprende una etapa suplementaria que consiste en hacer pasar la fase orgánica obtenida en la etapa ja sobre un adsorbente.
- 5 28. Procedimiento según una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que el adsorbente comprende al menos una de las siguientes características:
- no comprende grupo funcional;
 - se presenta en forma esférica;
 - presenta una superficie específica superior o igual a 1.100 m²/g
- 10 29. Procedimiento según una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que el adsorbente comprende al menos dos de las características siguientes:
- no comprende grupo funcional;
 - se presenta en forma esférica;
 - presenta una superficie específica superior o igual a 1.100 m²/g
- 15 30. Procedimiento según una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que el adsorbente es carbón activo, sin grupo funcional, en forma esférica, con una superficie específica mínima superior o igual a 1.100 m²/g.
31. Procedimiento según una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que el adsorbente presenta un tamaño de partículas comprendido entre 0,2 y 1 mm.
- 20 32. Procedimiento según una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que el adsorbente presenta un tamaño de partículas comprendido entre 0,3 y 0,9 mm.
33. Procedimiento según una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que el adsorbente es carbón activo, sin grupo funcional, en forma esférica, de diámetro comprendido entre 0,4 y 0,8 mm, con una superficie específica mínima superior o igual a 1.200 m²/g con diámetros de poro de aproximadamente 8 nm y volúmenes de poro de aproximadamente 0,15 cm³/g.
- 25 34. Extracto de ginkgo biloba esencialmente desprovisto de contaminantes orgánicos persistentes y susceptible de ser obtenido según un procedimiento tal como se describe en una de las reivindicaciones anteriores.
35. Extracto de ginkgo biloba según la reivindicación 34 esencialmente desprovisto de contaminantes orgánicos persistentes y que comprende
- 20 a 30 % en peso de flavonas glicosiladas,
- 30 - 2,5 a 4,5% en peso total de ginkgólidos A, B, C y J (en total),
- 2,0 a 4,0% en peso de bilobalida,
 - menos de 10 ppm de alquifenoles y menos de 10% en peso de proantocianidinas.
36. Extracto de ginkgo biloba según la reivindicación 35 esencialmente desprovisto de contaminantes orgánicos persistentes y que comprende
- 35 - 22 a 26 % en peso de flavonas glicosiladas,
- 2,5 a 4,5% en peso total de ginkgólidos A, B, C y J,
 - 2,0 a 4,0% en peso de bilobalida,
 - menos de 1 ppm de alquifenoles y menos de 10% en peso de proantocianidinas;
- 40 37. Extracto de ginkgo biloba según la reivindicación 34 esencialmente desprovisto de contaminantes orgánicos persistentes y que comprende
- 20 a 30 % en peso de flavonas glicosiladas,
 - 2,5 a 4,5% en peso total de ginkgólidos A, B y C,
 - 2,0 a 4,0% en peso de bilobalida,

- menos de 10 ppm de alquilfenoles y menos de 10% en peso de proantocianidinas;

38. Extracto de ginkgo biloba según una de las reivindicaciones 34 a 37, con un índice de cada PAH inferior a 5 µg/kg y el TEQ (PCDD/PCDF-PCB) inferior a 10 pg/g.

5 39. Extracto de ginkgo biloba según una de las reivindicaciones 34 a 38, con un índice de cada PAH inferior a 1 µg/kg y el TEQ (PCDD/PCDF-PCB) inferior a 1,5 pg/g.

40. Extracto de ginkgo biloba según una de las reivindicaciones 34 a 39, con un índice de cada PAH inferior a 0,5 µg/kg y el TEQ (PCDD/PCDF-PCB) inferior a 1,5 pg/g.

41. Extracto de ginkgo biloba según una de las reivindicaciones 34 a 39, con un índice de PAH inferior al límite de cuantificación (LOQ), y el TEQ (PCDD/PCDF-PCB) inferior a 1,0 pg/g.

10 42. Utilización de un extracto tal como se ha definido en una de las reivindicaciones 34 a 41 para la preparación de un medicamento para el tratamiento de los trastornos circulatorios periféricos o cerebrales, demencia o síndromes de la demencia.

43. Composición terapéutica que contiene, como principio activo, un extracto tal como se ha definido en una de las reivindicaciones 34 a 41, en asociación con excipientes terapéuticamente aceptables.

15