

AÑO 1957

Expediente núm.

238763



238763

REGISTRO DE LA PROPIEDAD INDUSTRIAL

PATENTE DE INVENCIÓN

MEMORIA DESCRIPTIVA

que se acompaña a la solicitud de

una **PATENTE DE INVENCIÓN** por **VEINTE** años, en España

a favor de

THE VITARINE COMPANY, INC., de nacionalidad norteamericana. domiciliado en 636 Eleventh Avenue, ~~ciudad~~ Nueva York, N.Y., E.U.A. ~~XXXXXX~~

por:

PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCION DE UN PRODUCTO MULTIVITAMINICO ACUOSO QUE CONTENGA VITAMINA B₁₂ EN FORMA ESTABLE"

Nº 4437

Agente Sr. ELZABURU

25 NOV. 1957

238763

238763



1957

MEMORIA DESCRIPTIVA

para solicitar

P A T E N T E D E I N V E N C I O N

e n

E S P A Ñ A

por VEINTE años

a nombre de THE VITARINE COMPANY, INC., entidad norteamericana, establecida en 636 Eleventh Avenue, Nueva York, N.Y., Estados Unidos de América, por:

"PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCION DE UN PRODUCTO MULTIVITAMINICO ACUOSO QUE CONTENGA VITAMINA B EN FORMA ESTABLE".-

12

Este invento se refiere a una composición nueva y perfeccionada de vitamina B₁₂ y a un método nuevo y perfeccionado de estabilizar la vitamina B₁₂.

5 En estado sólido, la vitamina B₁₂ (conocida también como cianocobalamina) está en forma de cristales rojo-oscuros, higroscópicos que son estables en forma sólida. Un gramo de los mismos se disuelve en unos 80 cc. de agua a 25° C.

10 La citada vitamina B₁₂ es estable esencialmente en forma sólida y en solución acuosa si se disuelve sin otras vitaminas, con una estabilidad máxima en un intervalo de pH de 4,5 a 5.

Cuando la solución acuosa además de la citada vitamina B₁₂ contiene otras vitaminas disueltas, particularmente vitamina C disuelta (ácido ascórbico), vitamina B₁ y niacinamida, la

1

238763



V. 1951

vitamina B₁₂ disuelta es inestable.

Para la obtención de una solución acuosa de vitamina B₁₂ con otras vitaminas, es conocido el agregar diversos ingredientes adicionales, como amortiguadores, preservativos, agentes que comuniquen sabor, etc. Estos ingredientes adicionales pueden incluir extracto de hígado que puede contener hierro en forma combinada, o sales minerales que puedan contener hierro en forma combinada. El extracto de hígado o dichas sales minerales se añaden con un objetivo terapéutico.

La bibliografía técnica indica que la vitamina B₁₂ es incompatible con el sulfato ferroso y es incompatible con la vitamina C, tiamina más niacinamida y cualquier sustancia que sea un reductor enérgico. Los compuestos ferrosos en solución con vitamina B₁₂ provocan la destrucción rápida de la vitamina B₁₂ cuando están presentes en concentraciones terapéuticas. Esto se ha comprobado por diferentes investigadores. Los compuestos ferrosos en cantidades terapéuticas están contra-indicados para su inclusión incluso en formulaciones sólidas en combinación con la vitamina B₁₂, debido al efecto perjudicial sobre la estabilidad de la vitamina B₁₂.

Por otra parte, se ha descubierto, de acuerdo con este invento, que una solución acuosa mixta de vitamina B₁₂ y otra u otras vitaminas, particularmente una solución acuosa mixta que contenga vitamina B₁₂ y vitamina C, puede estabilizarse por todos los compuestos o sales de hierro. Por tanto, de acuerdo con el presente invento, se obtienen productos que contengan varias vitaminas, incluyendo la vitamina C y la vitamina B₁₂, en forma estable adecuada para la administración oral o parenteral mediante la incorporación a ellas de una pequeña proporción, no terapéutica, de un compuesto o compuestos de hierro o sales del mismo. El grado de estabilización de la vitamina

B_{12} alcanzado depende del compuesto o sal de hierro particular que se emplee, de la concentración de compuesto de hierro o sal empleada, especialmente en comparación con la concentración de vitamina B_{12} que debe ser estabilizada, y de la naturaleza y concentraciones de las otras sustancias presentes en la solución pero en general la cantidad de hierro a emplear se halla en el intervalo de 15 a 2500 microgramos por mililitro, calculado como hierro atómico, para soluciones que contienen de 1/2 a 25 microgramos de vitamina B_{12} por mililitro. Los compuestos o sales de hierro estabilizantes se utilizan en este invento como agentes estabilizadores y no como agentes terapéuticos y, por consiguiente, su concentración está por debajo del nivel terapéutico. Según se indicó, si bien el empleo de concentraciones terapéuticas de compuestos ferrosos está contra-indicado, no obstante, en concentraciones muy bajas estos mismos compuestos ferrosos estabilizarán inesperadamente la vitamina B_{12} en presencia de otras sustancias consideradas normalmente perjudiciales para la estabilidad de la vitamina B_{12} (esto es, vitamina C, tiamina, y niacinamida). Estas concentraciones están muy por debajo de las cantidades de hierro utilizadas ordinariamente en las preparaciones para suministrar la dosis mínima diaria terapéutica de hierro (es decir, para anemias hipocrómicas, etc.).

Estos compuestos o sales de hierro estabilizantes del invento, pueden representarse, a modo de ejemplos aunque sin limitarse a ellos, por los siguientes; peptonato de hierro, citrato férrico amónico, cloruro férrico, gluconato ferroso, glicerofosfato férrico, sulfato férrico, sulfato ferroso, óxido férrico, óxido ferroso, complejos férricos o ferrosos de sustancias como el ácido etilendiamina-tetraacético y sus sales.

Se ha descubierto también que el efecto estabilizante empieza con una concentración mínima de hierro (calculado como

238763



hierro atómico) en la solución; que dicho efecto estabilizante aumenta hasta una cierta concentración máxima de hierro, calculada como hierro atómico, y que el efecto estabilizante disminuye cuando se sobrepasa dicha concentración máxima, calculando también el hierro como hierro atómico. Asimismo, el efecto estabilizante depende del correspondiente compuesto de hierro, además de su concentración. El efecto estabilizante depende también de los ingredientes disueltos, distintos de la vitamina B disuelta, que se hallan disueltos en la solución.

La vitamina B¹² puede mezclarse con el agente estabilizante en forma sólida¹², y la mezcla puede disolverse en agua para su empleo.

Por tanto, el invento incluye mezclas sin disolver, así como soluciones de dichas mezclas.

Sin limitarse a ellos, el invento se aclara por los siguientes ejemplos, que representan algunas formas de llevarlo a cabo, y algunas de las mejores maneras de realización del invento. Todas las determinaciones de pH aquí mencionadas se efectuaron a 20° C - 30° C, mediante el electrodo de vidrio.

En los siguientes ejemplos 1 a 9, se utilizaron dos soluciones acuosas de la siguiente composición:

SOLUCION I

Cada 5 cc. de esta solución contenían

| | |
|--|----------------------|
| Vitamina A | 3000 unidades U.S.P. |
| Vitamina D | 1000 unidades U.S.P. |
| Vitamina B ₁ | 1,5 mg |
| Vitamina B ₂ | 1,2 mg |
| Vitamina B ₁₂ (cianocobalamina) | 6 mcg |
| Vitamina C (ácido ascórbico) | 60 mg |
| Niacinamida | 10 mg |



238763

A esta solución se le pueden añadir agentes adecuados que comuniquen sabor (como el ácido cítrico, azúcar, sacarina, propileno-glicol, aceite de limón, etc.), solubilizantes de la vitamina A y vitamina D (como el polisorbato 80), preservativos (como el parahidroxibenzoato de butilo o benzoato sódico) y espesadores (como la carboximetil-celulosa).

SOLUCION II

Con excepción de la concentración de vitamina B₁₂, esta solución tiene la misma composición que la solución I antes descrita. Cada 5 ml de la solución II contenían 3 mcg. de vitamina B₁₂ (cianocobalamina), esto es, la mitad de la cantidad presente en la solución I.

Estas soluciones se subdividieron y se les añadió peptonato de hierro o citrato férrico amónico, en las cantidades que se indican en lo que sigue, a porciones separadas, que se almacenaron a 37° C. durante un período de tres semanas. Después de este período la concentración en vitaminas B₁₂ de las soluciones se determinó por el método microbiológico descrito en U.S.P. XIV Ser. Suplemento. Este método, tal como se utiliza normalmente, es exacto con un error de \pm 10-20%, que es un error razonable para un ensayo microbiológico de este tipo.

TABLA I.

| No. del ejemplo | Solución empleada | Estabilizador utilizado | Cantidad de estabilizador | Ensayo de B ₁₂ después del almacenamiento a 37° C. |
|-----------------|-------------------|-------------------------|---------------------------|---|
| 1. | I. | peptonato de hierro | 0,1 mg/cc | 7,05 mcg/5 cc. |
| 2. | I. | " " | 1,0 " | 5,46 " |
| 3. | I. | " " | 10,0 " | 6,50 " |
| 4. | I. | citrato férrico amónico | 0,1 " | 4,35 " |
| 5. | I. | " " | 1,0 " | 2,58 " |
| 6. | I. | " " | 10,0 " | 2,04 " |

238763

25



| | | | | |
|----|-----|---------------------|------------|----------------|
| 7. | II. | peptonato de hierro | 10,0 mg/cc | 3,19 mcg/5 cc. |
| 8. | I. | ninguno | -- | 1,78 " |
| 9. | II. | ninguno | -- | 0 " |

En los ejemplos 10-12 se utilizó una solución que contenía en cada cc. las siguientes vitaminas:

| | | |
|----|------------------------------------|----------------------|
| | Vitamina A (palmitato) | 8330 unidades U.S.P. |
| | Vitamina D | 2000 unidades U.S.P. |
| 5 | Vitamina B ₁ | 3,33 mg |
| | Vitamina B ₂ | 0,83 mg |
| | Vitamina B ₆ | 1,67 mg |
| | Vitamina C | 100 mg |
| | Niacinamida | 16,67 mg |
| 10 | Acido pantoténico (como pantenol) | 5 mg |
| | Cloruro de colina | 12 mg |
| | Inosita | 7 mg |
| | Vitamina E (tocoferoles mezclados) | 1,67 mg |

Esta solución contenía también como agentes que comunican sabor: glicerina, propilen-glicol, sacarina, gusto de frambuesa; como solubilizante de las vitaminas A, D y E: monolaurato de polioxietilen-sorbitan, o polisorbato 80; y como antiséptico: ácido metil-para-hidroxi-benzoico y/o benzoato sódico.

El disolvente utilizado fué una mezcla de glicerina, propilen-glicol y agua destilada. A la solución así preparada se le añadió vitamina B₁₂ (cianocobalamina) para obtener una concentración aproximadamente de 14 mcg por cc. El líquido resultante que se designa aquí como "Solución III" se subdividió en distintas porciones, a las que se añadieron los estabilizadores relacionados en la tabla 2 y las cuales se almacenaron a

238763



372 C durante 3 semanas. Después del almacenamiento, se determinó el contenido en vitamina B₁₂ con los resultados siguientes:

TABLA 2.

| No. del ejemplo | Solución empleada | Estabilizador utilizado | Cantidad de estabilizador | Ensayo de B ₁₂ después de almacenamiento a 372 C. |
|-----------------|-------------------|-------------------------|---------------------------|--|
| 10. | III. | peptonato de hierro | 10mg/cc. | 14,65 mcg/cc. |
| 11. | III | citrate férrico amónico | 10mg/cc. | 11,40 mcg/cc. |
| 12. | III | ninguno | -- | 0 |

En los ejemplos 13-19 se utilizó una solución acuosa, designada en lo que sigue como "Solución IV", 1 cc. de la cual contenía las siguientes vitaminas:

| | | |
|----|-----------------------------------|------------------------------|
| | B ₁ | 100 mg |
| | B ₂ | 1 mg |
| | B ₆ | 2 mg |
| 10 | B ₁₂ (cianocobalamina) | 23 mcg |
| | Niacinamida | 100 mcg |
| | Acido pantoténico (Pantenol) | 10 mg |
| | Alcohol bencílico | 1,5% (referido al peso/vol.) |

Esta solución se subdividió en diversas porciones, a las cuales se le añadieron los estabilizadores relacionados en la tabla 3. Las soluciones se almacenaron a 372 C. durante tres semanas y después de dicho tiempo se determinó su contenido en vitamina B₁₂. Los resultados se indican en la tabla siguiente:

238763 25



TABLA 3.

| No. del ejemplo | Solución empleada | Estabilizador utilizado | cantidad de estabilizador | Ensayo de B almacenamiento a 37° C. |
|-----------------|-------------------|----------------------------|---------------------------|-------------------------------------|
| 13. | IV. | peptonato de hierro | 0,1 mg/cc. | 25,2 mcg/cc. |
| 14. | IV. | " | 1,0 " | 19,1 " |
| 15. | IV. | " | 10,0 " | 18,1 " |
| 16. | IV. | citrato de hierro y amonio | 0,1 " | 19,9 " |
| 17. | IV. | " | 1,0 " | 16,5 " |
| 18. | IV. | " | 10,0 " | 14,8 " |
| 19. | IV. | ninguno | -- | 0 " |

En los ejemplos 20-22 se utilizó una solución designada en lo que sigue como "Solución V", que contenía los siguientes ingredientes en cada cc.:

| | | |
|----|--|--------|
| | Vitamina B ₁ | 100 mg |
| 5 | Vitamina B ₂ | 1 mg |
| | Vitamina B ₆ | 2 mg |
| | Niacinamida | 50 mg |
| | Pantenol | 10 mg |
| | Vitamina B ₁₂ (cianocobalamina) | 15 mcg |
| 10 | Vitamina C | 100 mg |
| | Amortiguadores, preservativos, etc. 5% (referido al peso/vol.) | |
| | Agua destilada, c.s. | |

Como amortiguadores y antisépticos, estaban presentes en la solución citrato sódico (2% p/v), alcohol bencílico (1% p/v) y la etanolamida del ácido gentísico (3% p/v). El ensayo inicial de la solución fué 16,1 mcg. de vitamina B₁₂ por cc.



Ejemplo 20

A una porción de la solución V se añadieron 0,5 mg/cc de peptonato de hierro y la solución se almacenó a 37^o C durante tres semanas. Después de este almacenamiento, la solución dió un ensayo de vitamina B₁₂ de 15 mcg/cc. Como esta solución tenía originalmente 15 microgramos de cianocobalamina por cc., el ensayo microbiológico indicó una concentración del 100% de potencia.

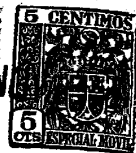
Ejemplo 21

A una parte de la solución V se le añadieron 12 mg/cc de peptonato de hierro y la solución se almacenó a 37^o C. durante tres semanas. Después del almacenamiento, se encontró un valor de 7 mcg/cc de vitamina B₁₂. Por tanto en este caso el valor encontrado de cianocobalamina en el ensayo microbiológico fué esencialmente el 50% de la concentración original.

Ejemplo 22

Después de un almacenamiento a 37^o C. durante tres semanas sin ninguna adición, una parte de la solución V dió un ensayo de vitamina B₁₂ de menos de 1 mcg/cc.

En los ejemplos precedentes 20-22 se demuestra el descenso de la estabilización de la vitamina B₁₂ que se obtiene cuando la concentración de compuesto de hierro se aproxima más estrechamente a niveles terapéuticos. La solución V, que contiene ácido ascórbico, tiamina, niacinamida, etc., se considera normalmente un medio de escasa estabilidad para la vitamina B₁₂, según se demuestra por el ejemplo 22. La adición de una pequeña cantidad de compuesto de hierro (0,5 mg/cc de peptonato de hierro) como en el ejemplo 20, produjo una solución con una buena estabilidad de la vitamina B₁₂. Una concentración del mismo compuesto de hierro como la utilizada en el ejemplo 21, indicó un decrecimiento pronunciado de la estabilidad de la vitamina B₁₂.



en comparación con el ejemplo 20. Debe observarse que la concentración de hierro atómico del ejemplo 21 fué de 2 mg/cc. La dosis humana normal de esta preparación es 1 cc. Por lo tanto, esta preparación suministra un quinto de las demandas diarias mínimas de hierro de un adulto por dosis. Sin embargo, esta concentración de hierro, en relación con los otros ingredientes, produjo una estabilización menos satisfactoria de la vitamina B₁₂ que la cantidad mucho menor utilizada en el ejemplo 20. Esto sirve para demostrar que el máximo de estabilización de la vitamina B₁₂ se alcanza con la adición de un compuesto de hierro en una cantidad mucho menor que las cantidades terapéuticas.

Ejemplo 23

Se preparó una solución inicial correspondiente a la utilizada en los ejemplos anteriores 10-12 que contenía en cada cc las vitaminas siguientes:

| | | |
|----|------------------------------------|----------------------|
| | Vitamina A (palmitato) | 8330 unidades U.S.P. |
| | Vitamina D | 2000 unidades U.S.P. |
| | Vitamina B ₁ | 3,33 mg. |
| 20 | Vitamina B ₂ | 0,83 mg. |
| | Vitamina B ₆ | 1,67 mg. |
| | Vitamina C | 100 mg. |
| | Nianinamida | 16,67 mg. |
| | Acido pantoténico (como pantenol) | 5 mg. |
| 25 | Cloruro de colina | 12 mg. |
| | Inosita | 7 mg. |
| | Vitamina E (Tocoferoles mezclados) | 1,67 mg. |

Esta solución contenía también como agentes que comunican sabor: glicerina, propilen-glicol, sacarina, gusto de frambuesa; como solubilizante de las vitaminas A, D y E. Monolaurato de polioxietilen-sorbitan, o Polisorbato 80; y como antiséptico,

238763



Av. 1831

el ácido metil-para-hidroxil-benzoico y/o benzoato sódico. El disolvente era una mezcla de glicerina, propilen-glicol y agua destilada.

5 La solución resultante se dividió en tres porciones y a estas porciones se le añadió vitamina B₁₂ como sigue.

(a) A la primera porción se le añadieron 10 mcg por cc. de actividad de vitamina B₁₂, tipo S (Merck) esto es, vitamina B₁₂ formada de un producto semi-refinado B₁₂ de fermentación cuya actividad es debida enteramente a cianocobalamina y que se mezcla con ingredientes inertes apropiados para el manejo en cantidad en una concentración de un mg. de actividad de vitamina B₁₂ por gramo de peso.

10 (b) A la segunda porción, se le añadieron 10 mcg por cc. de actividad de vitamina B₁₂, en forma de sólidos para administración oral (Calco), formado por un concentrado de estado semi-purificado de componentes de actividad B₁₂ obtenidos por fermentación microbiológica, apropiado para el empleo oral y mezclado con ingredientes inertes hasta una actividad de un mg. de B₁₂ por gramo de peso. Esta actividad de vitamina B₁₂ está compuesta aproximadamente de 75-80% de hidroxil-cobalamina, siendo el resto predominantemente cianocobalamina.

15 (c) A la tercera porción, se le añadieron 10 mcg. por cc. de actividad de vitamina B₁₂ en forma de cianocobalamina cristalina U.S.P.

25 Cada una de estas porciones (a), (b), y (c) se dividió nuevamente en tres partes y se añadió a algunas peptonato de hierro, en las cantidades indicadas a continuación. Se realizaron ensayos en el momento de la preparación y después de almacenamiento durante tres semanas a 37° C. Los resultados fueron los siguientes:

30

238763



TABLA 4.

| Porción | Ensayo original de vitamina B ₁₂ | Ensayos después de tres semanas de almacenamiento a 37° C. con: | | |
|---------|--|---|-----------|--------------|
| | | 0,0 | 0,1 mg/cc | 1 mg/cc. |
| | | de peptonato de hierro añadido. | | |
| (a) | 10,4 mcg./cc. | 0 | 0 | 8,2 mcg./cc. |
| (b) | 8,7 " | 0 | 0 | 9,1 " |
| (c) | 11,4 " | 0 | 0 | 9,7 " |

Los datos anteriores indican que un mg. por cc. de peptonato de hierro estabiliza a cada uno de los tres tipos de vitamina B₁₂ igualmente bien en la preparación aquí descrita.

Ejemplo 24.

- 5 Se preparó una solución multivitamínica que contenía en cada cc. los siguientes ingredientes (Solución VI):
- | | |
|---------------------------------------|----------------------|
| Vitamina A (Palmitato) | 8300 Unidades U.S.P. |
| Vitamina D | 2000 unidades U.S.P. |
| Vitamina B ₁ | 3,33 mg. |
| 10 Vitamina B ₂ | 0,83 mg. |
| Vitamina B ₆ | 1,67 mg. |
| Vitamina C | 100 mg. |
| Niacinamida | 16,67 mg. |
| Acido pantoténico (como Pantenol) | 5 mg. |
| 15 Vitamina E (Tocoferoles mezclados) | 1,67 mg. |

En esta preparación, que es análoga a la utilizada en los ejemplos anteriores 10-12, con la omisión del cloruro de colina e inosita, se utilizaron los mismos agentes de sabor y disolvente que en los ejemplos 10-12.

238763 25



A esta preparación, se le añadió Vitamina B₁₂ (Cianocobalamina) para producir una concentración de unos 4 mg/cc. Esta solución, designada en lo que sigue Solución V, se dividió en 13 porciones y a estas porciones se le agregaron compuestos de hierro según se describe más abajo. Después de almacenamiento durante tres semanas a 37^o C., se determinó la Vitamina B₁₂ y se obtuvieron los siguientes resultados:

TABLA 5

| Estabilizador empleado (si se utiliza) | Cantidad de este estabilizador | Cantidad de hierro por cc. | Ensayo B ₁₂ después de 3 semanas de almacenamiento a 37 ^o C. |
|---|--------------------------------|----------------------------|--|
| (a) ninguno | - | 0 | 0 |
| (b) cloruro férrico | 1 mg/cc. | 200 mcg/cc. | 2,24 mcg/cc. |
| (c) cloruro férrico con peptona de vaca | 1 " 2 " | 200 " | 2,23 " |
| (d) gluconato ferroso | 1 " | 116 " | 1,89 " |
| (e) gluconato ferroso con peptona de vaca | 1 " | 116 " | 1,80 " |
| (f) glicerofosfato férrico | 1 " | 180 " | 2,84 " |
| (g) citrato férrico amónico | 1 " | 160 " | 2,24 " |
| (h) sulfato férrico | 1 " | 280 " | 3,35 " |
| (i) sulfato ferroso | 1 " | 200 " | 2,76 " |
| (j) peptonato de hierro | 0,01 " | 1,6 " | 0 |
| (k) " " " | 0,1 " | 16 " | 0 |
| (l) " " " | 1,0 " | 160 " | 1,38 mcg/cc. |
| (m) " " " | 10,0 " | 1600 " | 4,18 " |

Los resultados anteriores demuestran que todos los compuestos de hierro utilizados tienen un efecto de estabilización so

10

288763



bre la vitamina B₁₂ en esta preparación, que contiene ácido ascórbico así como tiamina, niacinamida y otras vitaminas. Cuando no se utiliza estabilizador, la vitamina B₁₂ se descompone rápidamente. Los resultados con peptonato de hierro ("j" a "m") indican que una cantidad mínima de hierro es precisa para alcanzar la estabilización de la vitamina B₁₂ en esta preparación y que este efecto de estabilización aumenta al aumentar la cantidad de hierro dentro del intervalo de concentraciones ensayadas en este experimento. En general, solamente con algunas excepciones, los datos anteriores indican una estabilización creciente de la vitamina B₁₂ en esta preparación al aumentar la concentración de hierro en el intervalo limitado de concentraciones ensayado. Esto es cierto independientemente del tipo de compuesto de hierro utilizado.

En determinados tipos de preparaciones multivitamínicas puede parecer poco aconsejable añadir cantidades apreciables de compuestos de hierro que producen cantidades apreciables de iones férricos o ferrosos en solución (por ejemplo, cloruro férrico). Esto es debido al efecto perjudicial conocido de los iones férricos sobre la estabilidad de ciertas vitaminas (por ejemplo, vitamina A, clorhidrato de piridoxina, etc.). Sin embargo, es sabido asimismo que el hierro puede estar presente todavía en soluciones semejantes si se halla presente en forma de complejos o quelatos. Estos combinan los iones férricos y/o ferrosos en formas solubles, que están disociados sólo muy débilmente en las formas iónicas del hierro. Varios estabilizadores de los utilizados en los ejemplos anteriores sirven de aclaración de tales complejos (por ejemplo, citrato férrico amónico, peptonato de hierro, etc.). Uno de los agentes de quelación más eficaces es el ácido etilen-diamina-tetraacético y sus sales (co-

238763



nocido como EDTA o Verseno (R)). Este agente es tan eficaz que se ha recomendado su empleo como estabilizador del complejo B, ácido ascórbico, y otras preparaciones vitamínicas, para evitar la degradación de estas vitaminas en presencia de hierro iónico.

5 Se utiliza a menudo como estabilizador en estas preparaciones como consecuencia de esta propiedad. Sin embargo, incluso en presencia de EDTA, los compuestos de hierro estabilizarán todavía la vitamina B₁₂ en preparaciones multivitamínicas. Este efecto inesperado y sorprendente es de gran importancia práctica, puesto

10 que hace posible el empleo de compuestos de hierro en preparaciones multivitamínicas, para estabilizar la vitamina B₁₂ y, sin embargo, el hierro está combinado tan eficazmente en forma de quelato que existe una estabilidad excelente de las otras vitaminas en la preparación. Esto se aclara en el siguiente ejemplo 25.

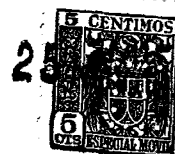
15

Ejemplo 25

Se preparó una solución idéntica a la composición empleada en la Solución I y II, excepto que la vitamina B₁₂ (cianocobalamina) era inicialmente 4,0 mcg/5 cc. Esta solución, que se designa en lo que sigue como solución VII, se subdividió en diversas porciones y se añadieron los estabilizadores y EDTA según se relaciona en la tabla 6. Después de almacenamiento durante 3 semanas a 37° C. se determinó la vitamina B₁₂ y se obtuvieron los siguientes resultados:

20

238763



T A B L A 6.

| Porción | Estabilizador empleado (si se emplea) | Cantidad de estabilizador. | Cantidad de hierro por cc. | Cantidad de EDTA | Ensayo B de 3 semanas de almacenamiento a 37°C. |
|---------|---------------------------------------|----------------------------|----------------------------|------------------|---|
| (a) | ninguno | 0 | 0 | 0 | 1,1 mcg/5cc. |
| (b) | ninguno | 0 | 0 | 1 mg/cc. | 0,8 " |
| (c) | cloruro férrico hexahidrato | 0,5 mg/cc. | 0,1 mg/cc | 1 " | 3,6 " |
| (d) | cloruro férrico hexahidrato | 0,5 " | 0,1 " | 0 | 3,7 " |
| (e) | peptonato de hierro | 0,6 " | 0,1 " | 1 mg/cc. | 3,7 " |
| (f) | " " | 0,6 " | 0,1 " | 0 | 4,3 " |
| (g) | citrato férrico amónico | 0,7 " | 0,1 " | 1 mg/cc. | 4,1 " |
| (h) | citrato férrico amónico | 0,7 " | 0,1 " | 0 | 4,0 " |

De los datos anteriores de la tabla 6 puede verse que la vitamina B₁₂ en esta preparación (que contiene vitaminas A, C, D, tiamina, niacinamida y otras vitaminas) es inestable sin la adición de ningún compuesto de hierro. La adición de cualquiera de los 3 tipos de compuestos de hierro utilizados (ionizado completamente como el cloruro férrico, parcialmente ionizado como el citrato férrico amónico, o no iónico como el peptonato de hierro) favorecerá materialmente la estabilidad de la vitamina B₁₂. La adición de EDTA sin hierro (porción b) no estabiliza la preparación. La adición simultánea de un compuesto de hierro con EDTA no reduce apreciablemente el efecto estabilizante de los compuestos de hierro sobre la vitamina B₁₂. debe observarse que las cantidades de EDTA añadidas en cada caso se hallan en exceso so-

23876328



bre las necesarios para la quelación de la cantidad total de hierro añadida. En las porciones (c), (e), y (g) el EDTA añadido fué suficiente para proteger a las otras vitaminas de la degradación producida por el hierro, de forma que no tuvo lugar una disminución apreciable de la potencia de la vitamina A, tiamina, piridoxina, ácido ascórbico, riboflavina y otras vitaminas.

A partir de los datos anteriores puede observarse también el principio de utilizar un agente formador de complejos con el hierro para proteger los componentes vitamínicos diferentes de la vitamina B₁₂ de la inestabilidad accidental producida por el empleo de hierro como estabilizador. Junto con el EDTA pueden utilizarse otros agentes formadores de complejos o agentes de enmascaramiento, solos o en combinación. Entre los muchos agentes formadores de complejos apropiados con este objeto pueden mencionarse los siguientes: Acido etilen-diamina-beta-etanol-triacético y sus sales (Versenol (R)), ácido d-sacárico y sus sales, cianuros (o ion ferro- o ferri-cianuro), sales del ácido pirofosfórico, ácido hexametafosfórico, ácido tripolifosfórico, ácido lactobiónico, ácido tartárico, ácido cítrico y similares, y dextrano, aloina y formas análogas de geles de hidratos de carbono. Se ha demostrado mediante ensayos la utilidad de estos agentes formadores de complejos para estabilizar vitaminas distintas de la vitamina B₁₂ frente a la destrucción por el estabilizador que contiene hierro, y al mismo tiempo sin interferir con el efecto estabilizante deseado del hierro para la vitamina B₁₂.

Los ensayos indicados aquí anteriormente se aplican a soluciones cuyo disolvente comprende agua, y en los que la concentración original del ácido ascórbico disuelto es mayor que la concentración original de la cianocobalamina disuelta. En las soluciones ensayadas, en ácido ascórbico disuelto estaba en una

288763



5 concentración suficiente para producir la descomposición de la cianocobalamina disuelta, resultando así la destrucción esencial o completa de la cianocobalamina cuando se determinó mediante ensayo microbiológico al cabo de un período de almacenamiento de 3 semanas a 37^o C., en ausencia de una proporción adecuada de agente estabilizante añadido.

10 Las soluciones a las que se añade un estabilizador de acuerdo con el presente invento tienen un pH en el intervalo de 3 a 7. Por ejemplo, el pH de las soluciones anteriormente descritas es como sigue:

| | | |
|----|------------|-----|
| | Solución I | 5,0 |
| | " II | 5,2 |
| | " III | 5,1 |
| | " IV | 4,3 |
| 15 | " V | 4,5 |
| | " VI | 5,0 |
| | " VII | 5,0 |

20 Se comprenderá a partir de lo anterior que el presente invento es aplicable a todas las formas de la vitamina B₁₂, como por ejemplo cianocobalamina cristalizada, cianocobalamina semi-refinada sin cristalizar y mezclas semi-refinadas de cianocobalamina e hidroxicobalaminas.

25 Se comprenderá asimismo que el invento no está limitado a los materiales específicos proporciones, fases y otros detalles descritos específicamente en lo anterior, y puede realizarse con modificaciones diversas sin salirse de los límites del invento según se define en las reivindicaciones adjuntas.

238763 2



NOTA

Los puntos de invención propia y nueva que se presentan para que sean objeto de esta solicitud de Patente de Invención en España por VEINTE años, son los siguientes:

5

1^a. - Procedimiento de obtención de un producto multivitaminico acuoso que contenga vitamina B₁₂ en forma estable, que comprende combinar en solución acuosa la vitamina B₁₂ por lo menos otra vitamina normalmente incompatible con la vitamina B₁₂ y como estabilizador un compuesto de hierro en una cantidad suficiente para proporcionar de 15 a 2500 microgramos, calculadas como hierro atómico, por mililitro de solución.

10

2^a. - Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la vitamina B₁₂ se emplea en una cantidad suficiente para proporcionar por lo menos 0,5 microgramos de vitamina B₁₂ por cada mililitro de solución.

15

3^a. - Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que se incorpora vitamina C a la solución.

4^a. - Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 3, en el que la vitamina C se emplea en una cantidad que es normalmente destructora por sí misma para la vitamina B₁₂.

20

5^a. - Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que se incorporan a la solución tiamina y niacinamida.

6^a. - Procedimiento de acuerdo con las reivindicaciones precedentes en el que se incorpora a la solución un agente formador de complejos o agente de enmascaramiento en una cantidad suficiente para formar un complejo con el hierro presente en la solución.

25

7^a. - Procedimiento de acuerdo con las reivindicaciones precedentes, en el que se incorpora a la solución ácido atilendiamina-tetraacético o una sal del mismo en una cantidad suficiente para formar un complejo con el hierro presente en la solución.

30

238763

25 NOV 1957



82. - Procedimiento de acuerdo con las reivindicaciones precedentes en el que el estabilizador es peptonato de hierro.

92. - Procedimiento de acuerdo con las reivindicaciones precedentes en el que el estabilizador es citrato férrico amónico.

102. - Procedimiento de acuerdo con las reivindicaciones precedentes en el que el estabilizador es un complejo de hierro del ácido etilendiamina-tetraacético.

112. - Procedimiento para la obtención de un producto multivitamínico acuoso que contenga vitamina B₁₂ en forma estable.

Tal y como se ha descrito en la Memoria que antecede y con los fines que se han especificado.

Esta Memoria consta de veinte hojas escritas a máquina por una sola de sus caras.

25 NOV. 1957

Madrid,

F.A.
Alberto de Eizaburu
Per Peder