

Pl. 272840

-1-



272840

MEMORIA DESCRIPTIVA

que se acompaña a la solicitud de un

PATENTE DE INTRODUCCION

por DIEZ años en España, por "METODO DE PRODUCCION

DE UNA COMPOSICION DOTADA DE POTENCIA EN VITAMINA D

EN FORMA ALIMENTICAMENTE ESTABLE".

a favor de

PETER HAND BREWERY COMPANY

domiciliado en CHICAGO, Illinois, EE. UU.

BASADA en la Patente estadounidense nº 2.758.923

concedida el 14 agosto 1956.

272840



Esta invención se relaciona con métodos para mejorar la estabilidad de la vitamina D2 y la D3 y con los nuevos productos de los mismos.

5 La gran necesidad y uso de las vitaminas D2 y D3 en la producción de artículos alimenticios fortificados, junto con la conocida inestabilidad de estas vitaminas en presencia del aire, la luz y minerales, ha creado grandes dificultades a todos los que intervienen en la producción, venta y uso de estos productos.

10 Se han realizado intentos de reducir al mínimo, cuando menos, el grado de deterioro de las vitaminas D2 y D3 a que tan susceptibles son, pero sin ningún éxito efectivo. Así, en un intento de mejorar sus características de estabilidad, estas vitaminas han sido mezcladas con antioxidantes y lecitina; también han sido incorporadas en vehículos tales como salvado de trigo, sémola de haba de soja, sólidos secos de leche, etc. Aunque puede comunicarse cierto grado de estabilidad a las vitaminas por tales procedimientos, éstos resultan muy lejos de ser adecuados, particularmente cuando el preparado vitamínico D2 ó D3 ha de almacenarse, y especialmente si durante ese almacenamiento tales preparados han de estar en contacto con aire, luz y materia mineral. Como la fortificación de productos tales como alimentos para animales, por ejemplo, casi siempre incluye la adición a estos alimentos de varios denominados "suplementos minerales" en forma de sales y similares, se comprende la importancia de la inestabilidad de estas vitaminas en presencia de minerales.

25 En consecuencia, uno de los importantes objetos de mi invención consiste en proporcionar preparados vitamínicos que contengan vitamina D2 o D3 y que presenten una forma sustancialmente estable.

30 Otro objeto es el de proporcionar composiciones en las que la actividad de la vitamina D2 o D3 permanece sensiblemente constan-



272840

te durante períodos relativamente prolongados y bajo condiciones adversas.

Otro objeto es el de ofrecer una preparación estable de vitamina D2 o D3 cuya potencia permanezca a un nivel sustancialmente constante cuando el preparado se somete a las influencias normalmente destructivas de otros materiales, adversas condiciones de elaboración o extendido período de almacenamiento.

Otro objeto es el de proporcionar unas vitaminas D2 y D3 que posean mejoradas características de estabilidad y solubilidad en agua.

Otro objeto es el de proporcionar un suplemento alimenticio que comprenda vitamina D2 y/o D3 y minerales dietéticos, caracterizado por la perfeccionada estabilidad de la vitamina D2 y/o D3.

Esta invención se basa en mi descubrimiento de que mediante reacción de la vitamina D2 o D3 con ciertos ácidos de la bilis, concretamente los que tengan un grupo hidróxido específicamente en las posiciones 3 y 12, tales como los ácidos desoxicólico o ácidos apocólicos, se produce una composición que posee una actividad vitamínica sustancialmente equivalente a la actividad de la vitamina reaccionada y que además presenta un notable grado de estabilidad en presencia de minerales, agentes oxidantes, luz, aire y calor.

Las nuevas composiciones de esta invención puede prepararse mezclando vitamina D2 o D3 con el ácido de bilis en un disolvente adecuado y forzando una precipitación por adición de agua, agua acidulada o agua salada a dicha mezcla, o evaporando la mezcla disolvente.

Los siguientes ejemplos ilustrarán mi invención detalladamente, entendiéndose naturalmente que tales ejemplos son ilustrativos sólo y no deberán considerarse en sentido limitativo.

272840



Ejemplo I

Preparado Vitamina D2-Acido desoxicólico.

Se efectuó una serie de preparados disolviendo varias cantidades de vitamina D2 cristalina y pura y ácido desoxicólico en metanol. Luego se evaporó el metanol al vacío a una temperatura suficiente para separar el disolvente adherido. En todos los casos resultaron unos productos blancos y cristalinos dotados de los puntos de derretido que se muestran en la siguiente tabla.

Tabla I

Peso ADC (g)(1)	Peso Vit. D2 (g)	Porcentaje ADC	Relación gramo-molecular aproximada ADC-D2	Punto derretido de preparado, °C
0.2198	.2113	51.0	1:1	76
0.5206	.1663	75.7	3:1	93
1.2358	.2968	80.6	4:1	96
1.0715	.2359	82.0	4.5:1	97
1.0393	.1998	83.9	5:1	98
1.1596	.2086	84.8	5.5:1	99
1.4176	.2271	86.2	6:1	100
0.9430	.1434	86.8	6.5:1	101
1.0828	.1301	89.3	8:1	—

(1) Acido desoxicólico.

Ejemplo II

Preparado Vitamina D3-Acido Desoxicólico

Se disolvieron en metanol varias cantidades de vitamina D3 cristalina y pura y ácido desoxicólico (pureza calculada del 98%). Luego se evaporó el metanol al vacío y a una temperatura suficiente para separar el disolvente adherido. En todos los casos quedaron unos productos blancos y cristalinos con puntos de derretido como los que se muestran en la siguiente tabla.

Tabla II

Peso ADC (g)	Peso Vit. D3 (g)	Porcentaje ADC	Relación gramo-molecular	Punto derretido del preparado, °C
0.1621	0.1578	50.7	1:1	74
0.3266	0.1047	75.7	3:1	94
1.0890	0.2637	80.5	4:1	98
1.0814	0.2117	83.6	5:1	106
1.5346	0.2494	86.0	6:1	102
1.4001	0.1700	89.2	8:1	104



272840

10 MAR 1954

Ejemplo III

5 Como es sabido que la materia mineral y la humedad son particularmente destructores de la vitamina D₃, se preparó una serie de composiciones vitamina D₃-ácido desoxicólico como en el ejemplo II, probándose su estabilidad mediante la mezcla de los mismos en una masa comercial a base de mineral de cerdo; esta masa mineral tenía la siguiente composición: 16% de fósforo, 0,035% de iodo, 1,10% de manganeso, 0,90% de hierro, 0,07% de cobre, 0,022% de cobalto y 26% de calcio.

10 Estas mezclas fueron químicamente ensayadas y luego almacenadas a 45°C y 100% de humedad relativa. Al cabo de seis días fueron ensayadas de nuevo, con los resultados que se muestran en la siguiente tabla.

Tabla III

15

Relación molecular ADC-D ₃	Porcentaje de retención
D ₃ pura	16.9
1:1	57.0
3:1	64.4
4:1	74.5
5:1	88.0
6:1	94.0
8:1	86.4

20

Ejemplo IV

25 Se realizó un ensayo similar con composiciones de vitamina D₂-ácido desoxicólico, preparadas de acuerdo con el ejemplo I, y mezcladas con una mezcla comercial a base de minerales de cerdo como la empleada en el anterior ejemplo, Las mezclas fueron ensayadas y almacenadas como en el ejemplo anterior. Al cabo de seis días fueron ensayadas químicamente de nuevo, con los resultados que se muestran en la siguiente tabla.

272840

Tabla IV



10 MAY 1952

Relación molecular ADC-D2	Porcentaje de retención
D2 pura	59.2
1:1	62.2
3:1	95.5
4:1	100.2
5:1	99.2
6:1	99.4

Ejemplo V

Un producto vitamina D3-ácido desoxioólico, preparado como en el ejemplo II y teniendo una relación vitamina D3-ácido desoxioólico de 1:5, fué ensayado en cuanto a su estabilidad en una prueba simultánea con varios preparados comerciales que contenían una fuente de vitamina D3.

En esta prueba, los productos vitamínicos D3 objeto de ensayo fueron mezclados con una "mezcla previa" vitamínica comercial usada por los fabricantes de alimentos para animales a fin de completar dichos alimentos. La mezcla previa contenía un suplemento de vitamina B12, suplemento antibiótico alimenticio, otro suplemento de riboflavina, niacina, pangotenato cálcico y cloruro de colina. Se añadió suficiente material de vitamina D3 para que las muestras de mezcla previa contuviesen 1000 unidades Chick Internacionales por gramo.

Las mezclas previas de muestra conteniendo varias fuentes de vitamina D3 fueron almacenadas durante 8 semanas en bolsas de paño a 45 C. Al final de este período, cada muestra fué sometida a un análisis biológico con pollos para la determinación del contenido de vitamina D3, con resultados como los que se muestran seguidamente:



Tabla V

10 MAR 1952

Fuente de vitamina D3	Porcentaje retención después almacenamiento 8 semanas a 45°C
Aceite comercial alimenticio D3 con antioxidantes y lecitina añadidos, todo ello contenido en salvado corriente de trigo	34
Aceite comercial alimenticio D3 conteniendo en sémola de haba de soja	15
Aceite alimenticio comercial D3 contenido en sémola de haba de soja y revestido de zeína	20
Producto comercial seco D3 anunciado como "mineralmente estable", contenido en sólidos secos de leche	15
Producto comercial seco D3 contenido en cera microcristalina.	20
Preparado vitamina D3-ADC.	90

Ejemplo VI

Preparación de complejo vitamina D2-ácido apocólico.

5 Se disolvieron 0,1137 g de vitamina D2 y 0,8194 g de ácido apocólico en 30 ml de metanol (anhidro) y luego se separó el metanol al vacío y con un suave calor, quedó un producto blanco y cristalino con una relación molecular de 8 moléculas-gramo aproximadamente de ácido apocólico por 1 molécula-gramo de vitamina D3.

Ejemplo VII

Preparación de complejo vitamina D3-ácido apocólico.

10 Se disolvieron 0,0554 g de vitamina D3 y 0,4498 g de ácido apocólico en 30 ml de metanol (anhidro) y se evacuó el metanol al vacío y un suave calor. Quedó un producto blanco y cristalino con una relación molecular de 8 moléculas-gramo aproximadamente de ácido apocólico por 1 molécula-gramo de vitamina D3.

15

Ejemplo VIII

Se demostró la estabilidad de los complejos vitamina D2 y vitamina D3-ácido apocólico mediante un ensayo comparativo como sigue: el preparado producido en los anteriores ejemplos VI y VII,

272840



10 MAR 1952

así como muestras de vitamina D2 y D3 puras y cristalinas fueron mezclados con mezcla mineral de cerdo, como se describe en el ejemplo III, y luego se almacenaron a 45°C y un 100% de humedad relativa.

Pasados 8-1/2 días, se volvieron a ensayar químicamente las mezclas, con los resultados que se muestran en la tabla VI.

Tabla VI

Producto	Porcentaje de retención
Vitamina D2 cristalina	4,4
Vitamina D3 cristalina	3,5
Complejo vitamina D2-ácido apocólico	78,5
Complejo vitamina D3-ácido apocólico	81,8

Las nuevas composiciones de mi invención pueden prepararse también como se muestra en el siguiente ejemplo, reaccionando resina "de vitamina cruda D2 o D3, en lugar de las vitaminas cristalinas más puras, con ácidos de bilis. Tales "resinas" son las bien conocidas composiciones resultantes de la irradiación de ergosterol y acetato de 7-dehidrocolesterilo y contienen, además de la vitamina D2 o D3, otros productos de la irradiación.

Ejemplo IX

Se disolvieron 152 g de resina de vitamina D3 cruda conteniendo aproximadamente veinte millones de Unidades Chick Internacionales de vitamina D3 por gramo, en 6 litros de metanol anhidro caliente, añadiendose 805 g de ácido desoxicólico. Esto supone una relación de 5 partes aproximadamente de ácido desoxicólico por 1 parte de resina. Se separó el disolvente al vacío, quedando un material cristalino pardo claro.

Se comparó este material con la composición descrita en el ejemplo II, en el que la relación entre ácido desoxicólico y vitamina D3 era de 5 a 1.

Se efectuó la comparación mezclando cada una de las anteriores composiciones descritas en el ejemplo III con una mezcla de

272340



minerales de cerdo, ensayando las mezclas, almacenándolas a 45°C y 100% de humedad relativa y volviéndolas a ensayar luego, Se obtuvieron los resultados que se muestran en la siguiente tabla:

Tabla VII

Producto	Días de almacenamiento	Porcentaje de retención
Preparado ácido desoxicólico-vitamina D3 de una relación de 5 a 1 entre ácido desoxicólico y vitamina D3	25	68,5
Composición ácido desoxicólico-vitamina D3 (preparada como en el ejemplo IX)	23	79,5

5

Las composiciones de la presente invención no son simples mezclas del ácido de bilis y vitamina D2 o D3, sino que son definidos productos de reacción de la naturaleza de compuestos o complejos de alguna especie. A este respecto, los puntos de derretido de los preparados mostrados en las tablas I y II son marcadamente diferentes de los puntos de derretido de simples mezclas mecánicas de ácido desoxicólico y vitamina D2 y D3.

10

15

Las presentes composiciones pueden hacerse solubles en agua poniéndolas en contacto con una solución alcalina diluida, por ejemplo una solución 0,5 N de Hidroxido sódico, y los productos de mi invención incluyen sales sódicas y potásicas de los complejos de vitamina D2 o D3-ácido de bilis anteriormente descritos, así como otras sales alcalino-térreas y alcalino-metálicas de los mismos.

20

25

Aunque en los anteriores ejemplos específicos se usó metanol en la preparación de los complejos ácido de bilis-vitamina D2 o D3, se comprende naturalmente la posibilidad de emplear otros disolventes, siempre que tales disolventes o mezclas disolventes tengan una afinidad mutua con el ácido desoxicólico o ácido apocólico y la vitamina D2 o D3. Así, el etanol y la acetona son ejemplos de tales disolventes, y el cloroformo y el metanol ejemplos de adecuadas mezclas disolventes.

272340



REIVINDICACIONES

5 1ª.- Método de producción de una composición dotada de potencia en vitamina D en forma altamente estable, varacterizada por una perfeccionada resistencia al deterioro de tal potencia, cuyo método comprende la disolución de (a) un miembro del grupo consistente en vitamina D2 y vitamina D3 y (b) un ácido de bilis dotado de grupos hidroxidos en las posiciones 3 y 12, en un disolvente común de ellos, y posteriormente la separación del disolvente de los mismos.

10 2ª.- El método de la reivindicación 1ª en el cual el ácido de bilis es ácido desoxicólico.

3ª.- El método de la reivindicación 1ª en el cual el ácido de bilis es ácido apocólico.

15 4ª.- El método de la reivindicación 1ª en el cual dicha composición es un producto de reacción de vitamina D2 y ácido desoxicólico y tiene una relación molecular de aproximadamente 1 molécula-gramo de vitamina D2 por 1 a 8 moléculas-gramo de ácido desoxicólico.

20 5ª.- El método de la reivindicación 1ª en el cual dicha composición es un producto de reacción de vitamina D2 y ácido apocólico y tiene una relación molecular de aproximadamente 1 molécula-gramo de vitamina D2 por 1 a 8 moléculas-gramo de ácido apocólico.

25 6ª.- El método de la reivindicación 1ª en el cual dicha composición es un producto de reacción de vitamina D3 y ácido desoxicólico, teniendo dicho producto de reacción una relación molecular de 1 molécula-gramo de vitamina D3 por 1 a 8 moléculas-gramo aproximadamente de ácido desoxicólico.

30 7ª.- El método de la reivindicación 1ª en el cual dicha composición es un producto de reacción de vitamina D3 y ácido apocólico, teniendo dicho producto de reacción una relación molecular de 1 molécula-gramo de vitamina D3 por 1 a 8 moléculas-gramo aproximadamente de ácido apocólico.

272840



0 MAR. 1962

8ª.- Por último se reivindica como objeto sobre el que ha de recaer la presente Patente de Introducción que se solicita para España, por "METODO DE PRODUCCIÓN DE UNA COMPOSICION DOPADA DE POTENCIA EN VITAMINA D EN FORMA ALTAMENTE ESTABLE".

5

Todo tal y conforme queda expresado en la presente Memoria Descriptiva que consta de once hojas escritas a máquina por una sola cara .

Madrid, 11 Diciembre 1961

ALFONSO UNGRIA

P.P.