



412.581

412581

MEMORIA DESCRIPTIVA.  
-----

PATENTE DE INVENCION.

P A I S : ESPANA.

*Int. ca. COH*

DURACION : 20 ANOS.

OBJETO : "PERFECCIONAMIENTOS INTRODUCIDOS EN UN  
"METODO DE FABRICACION DE UN PRODUCTO  
"RICO EN ESTEROLINAS".

-----

A nombre de : DON ROELOF WILKE LIEBENBERG,

Residente en : JOHANNESBURG (Transvaal) Sudáfrica,  
16, Andre Street, Pierneef Park.

Nacionalidad : SUDAFRICANA.

13 MAR



412581

Este invento se refiere a un método para estabilizar y/o extraer esterolinas a partir de vegetales (las esterolinas son glucósidos de fitoesterol) que incluyen esteres de esterolinas de origen natural.

- 5.- Se ha encontrado sorprendentemente que las esterolinas son una necesidad alimenticia esencial y útil y que estos compuestos son útiles, si no esenciales, en el tratamiento de problemas geriátricos y de enfermedades denominadas "de la civilización" y de la ancianidad tales como la hipertrofia de la glándula prostática, colesterosis, artritis, gota y similares. Así, se han obtenido efectos terapéuticos inesperados por administración oral de preparaciones o productos que contienen tales esterolinas.
- 10.-

- Estas esterolinas se encuentran virtualmente en todas las plantas. Han sido identificadas en manzanas (1), patatas 2, 3), zanahorias, cebollas, rábanos, lechuga (4), tabaco (5), algodón (6), cacahuetes (7), frutos cítricos (8), espinacas (9), judías (9) y otras (11-15) y muchas más, pero su valor terapéutico o su importancia como constituyente
- 15.- alimenticio esencial no había sido reconocida antes hasta este invento (11, 16-20) aunque han aparecido referencias a su actividad biológica en la bibliografía (19, 21 - 23).
- 20.-

- Los productos de este invento pueden ser utilizados como tales como productos alimenticios o como agentes terapéuticos, o pueden ser usados como aditivos o constitu-
- 25.-



yentes de productos alimenticios o preparaciones farmacéu-  
cas. Como el valor beneficioso de estos productos enrique-  
cidos con esterolinas depende de su contenido en esterolinas,  
este contenido determina la cantidad diaria de productos re-  
querida por el consumidor o paciente (humano o animal). Las  
30.- propias esterolinas no son tóxicas cuando se toman oralmen-  
te y ha sido observado por el inventor que son de pequeño  
valor terapéutico o beneficioso cuando se toman en forma  
cristalina pura. Se ha visto que una dosis diaria de 0,01  
35.- mg de contenido en  $\beta$ -D-glucósido de  $\beta$ -sietoesterilo  
(la fitoesterolina natural más común) es adecuada como me-  
dida terapéutica. Las sobredosis de esterolinas son ino-  
cuas. Los productos alimenticios, aditivos elimenticios,  
productos farmacéuticos o aditivos a productos farmacéuti-  
40.- cos enriquecidos en esterolina, deben por ello tender a una  
disponibilidad de esterolina diaria preferida de 0,01-0,10  
mg.

Las esterolinas obtenidas a partir de cualquier tipo  
de planta son mejor conocidas como fitoesterolinas. Estos  
45.- compuestos son los glucósidos, usualmente el glucósido de  
planta - o fitoesteroles. El más común y abundante de estos  
esteroles de plantas en el  $\beta$ -fitoesterol (12, 24-27) usual-  
mente acompañado por menores cantidades de campesterol y  
estigmaesterol (24, 25, 26b) y muy a menudo de pequeñas can-  
50.- tidades de colesterol (24, 25). El fitoesterol y, por tanto,  
la fitoesterolina más abundante en una planta o incluso en  
un género o familia de plantas no es necesariamente el  $\beta$ -fi-  
toesterol y sus glucósidos (9, 12, 25, 27). Se conocen mu-  
chos otros fitoesteroles estrechamente relacionados y se ha  
55.- supuesto y encontrado que todos existen como las correspon-



dientes esterolinas o ésteres de las mismas (1-3, 8, 9, 28-30). La existencia (12, 15, 24, 25, 27, 31, 32) y descripciones (12, 15, 24, 25, 27, 31, 32, 33) de estos esteroides de plantas han sido bien documentadas.

- 60.- Es un objeto del presente invento crear un simple y eficaz método de preservar, extraer o concentrar esterolinas presentes en plantas, o alternativamente, preparar productos de plantas de tal modo que las esterolinas naturales sean preservadas de la degradación o la destrucción.
- 65.- Cualquier proceso de preservación, extracción, enriquecimiento o concentración de las esterolinas debe tender primero a la destrucción total de todas las enzimas glucosídicas presentes en las plantas consideradas. Las enzimas glucosídicas son compuestos relativamente robustos, que pueden ser aislados empleando disolventes orgánicos (etanol) como agentes de precipitación; solamente las altas temperaturas (60° y superiores) las desnaturalizarán permanentemente. De este modo, la desactivación o desnaturalización temporales mediante un secado por congelación o adición de disolvente orgánico no impedirá que una enzima glucosídica recupere su modo de acción una vez que haya sido eliminado el ambiente desactivante. Solamente después de que las enzimas glucosídicas hayan sido permanentemente desnaturalizadas (destruidas) puede el material vegetal ser todavía tratado para extraer las esterolinas, enriquecerlas o concentrarlas por medio de su desmenuzamiento (del material de la planta) seguido de un proceso de ebullición acuosa. El período de ebullición acuosa preferido de la pulpa de la planta desnaturalizada es de 30 minutos a 2 horas, a presiones normales o elevadas.
- 70.-
- 75.-
- 80.-
- 85.-



De acuerdo con el invento, se ha creado un método para la preservación, concentración y/o extracción de esterolinas a partir de plantas que las contienen por:

(a) Desactivación de los sistemas de enzimas degradantes  
90.- específicos de las esterolinas calentando el material de la planta (ya como tal o como pulpas, fragmentos, rebandas, pieles, etc., obtenidos de partes de plantas).

(b) Tratamiento adicional del material vegetal desactivado, por medio de un procedimiento de ebullición acuoso.

95.- Este proceso de calentamiento puede ser aplicado a cualquier material vegetal que haya de ser almacenado o tratado adicionalmente (por ejemplo formación de pulpa), extracción de jugo, secado, congelación y similar). Es importante que este proceso de preservación sea aplicado tan pronto como sea posible oportunamente en cualquier fabricación de productos vegetales, sea una preservación alimenticia, un procedimiento de extracción o concentración de esterolinas.  
100.-

Las aplicaciones de la estabilización de esterolinas en productos vegetales son:  
105.-

1. Calentamiento del material vegetal fresco para desactivar las enzimas degradantes específicas de las esterolinas antes de que el tratamiento comience a dar un producto final comestible.

110.- 2. Calentamiento de los productos vegetales inmediatamente después de las primeras etapas de tratamiento que necesitan, por ejemplo, corte, rebanado, trituración, desmenuzado, formación de pulpa, separación de jugo, etc., antes de que continúe el tratamiento para obtener productos finales  
115.- comestibles.



- Los procesos de calentamiento usados para estabilización de las esterolinas y, si se requiere, la movilización de las esterolinas, pueden alcanzar una temperatura final de 60-200°C en todo el material vegetal cuyas enzimas han
- 120.- de ser desactivadas. El período de calentamiento puede oscilar de segundos a horas, ya que las esterolinas son relativamente estables al calor en condiciones neutras. Los tiempos de calentamiento preferidos son de 30 min. a una hora cuando comienza la ebullición si el producto final es un
- 125.- extracto o concentrado de planta enriquecido en esterolina, o 15-60 segs. a  $75^{\circ} \pm 5^{\circ}\text{C}$  cuando se usa un proceso de pasteurización para destruir las enzimas para la preservación de esterolinas. Se apreciará que pueden emplearse varias formas de calentamiento distintas de la ebullición tales
- 130.- como, por ejemplo, calentamiento con vapor o calentamiento en seco.

- El material o producto de la planta puede consistir en cualquier producto no tóxico o no venenoso, finalmente comestible, tal como frutos de cualquier tipo, hojas, tallos,
- 135.- raíces y tubérculos, etc., e incluso productos residuales tales como pieles, pipas de frutos, desechos de hojas, etc.

Los procesos típicos de acuerdo con el invento son como sigue:

- (a) El material vegetal es calentado inmediatamente después de una trituración, antes de otro tratamiento.
- 140.-

(b) El material de la planta es calentado antes de que comiencen los procesos que dañan las células de las plantas.

- Un ensayo confiable y útil de la actividad de la esterolina es el efecto terapéutico de las esterolinas en pacientes con hipertrofia benigna de la próstata. Se ha descrito
- 145.-



en la memoria de la Patente del Reino Unido nº. 1.298.047.

PROCEDIMIENTO DE EXTRACCION

Una comparación de varios métodos de extracción emplea-  
dos y la concentración en esterolina resultante en un pro-  
150.- ducto final enriquecido en esterolina, da una indicación  
muy buena de la efectividad de estos diferentes métodos.  
Además, los resultados beneficiosos de tales productos en-  
riquecidos cuando se administran (en cápsulas o similares)  
a pacientes que sufren de hipertrofia benigna de la glándula  
155.- prostática, indica su valor terapéutico y su efectividad.

Comparación de la concentración de esterolinas en ex-  
tractos obtenidos de los bulbos de Hypoxis rooperi. La can-  
tidad media de contenido en esterolinas calculada como B-D-  
glucósido de Beta-sitoesterilo obtenido en varios experimen-  
160.- tos, está expresada en mg. por 100 grs. de polvo secado por  
pulverización.

mg./100 grs.

Método 1 (a)

Se extrajo el jugo de 3 kilos de bulbos de Hypoxis la-  
165.- vados utilizando un extractor de jugos domésticos que traba-  
ja sobre el principio de la centrifugación. El jugo obtenido  
filtrado a través de una tela tupida fué enfriado durante 3  
días y luego secado por pulverización.

0,035 mg/100 grs.

170.- Método 1 (b)

Se extrajo el jugo de 3 kilos de bulbos de Hypoxis la-  
vados utilizando un extractor de jugos domésticos que traba-  
ja sobre el principio de la centrifugación. El jugo extraído  
se vertió inmediatamente en un litro de agua en ebullición y  
175.- la mezcla se hirvió durante 30 minutos. La mezcla fué filtra-



da a continuación a través de una tela tupida y el filtrado se enfrió durante 3 días antes de secarlo por pulverización.

0,81 mg/100 grs.

Conclusión: (I) La diferencia en la concentración de la esterolina en ámbos métodos se atribuye al hecho de que la ebullición inmediata del jugo extraído detuvo la degradación de la esterolina por la acción enzimática.

(II) El proceso de ebullición extrajo más esterolina de las finas fibras restantes en el jugo extraído antes de que fueran eliminadas por filtración en el método 1 (b).

Método 2 (a)

Se formó una pulpa con 3 kilos de bulbos de Hypoxis lavados frescos y se mezcló con 6 litros de agua a temperatura ambiente y se dejó en reposo durante 11 horas a temperatura ambiente antes de que comenzara la refrigeración. La mezcla se almacenó luego durante 3 días en frío antes de que se filtrara y se secara por pulverización.

0,31 mg/100 grs.

Método 2 (b)

Se formó una pulpa con 3 kilos de bulbos de Hypoxis lavados y frescos y se mezcló con 6 litros de agua a temperatura ambiente e inmediatamente se enfrió y almacenó durante 3 días con refrigeración antes de filtrar y secar por pulverización el filtrado.

200.-

5,75 mg/100 grs.

Método 2 (c)

Se formó una pulpa con 3 kilos de bulbos de Hypoxis lavados frescos, y se mezcló con 6 litros de agua en ebullición; se continuó la ebullición durante una hora. Después de ello, la mezcla se filtró y el filtrado se enfrió duran-

412581

13 MAR. 1973



- 9 -

te 3 días antes de secarlo por pulverización.

8,92 mg/100 grs.

Conclusión: Parece obvio que la concentración muchísimo mayores de la esterolina obtenida en los métodos 2 (b) y 2 (c) es debida al hecho de impedir la degradación de la esterolina por acción enzimática como debe ocurrir en el método 2 (a) a temperatura ambiente durante algún tiempo antes de que comenzara el enfriamiento. La diferencia entre 2 (b) y 2 (c) puede atribuirse a:

215.- (I) degradación parcial de la esterolina por acción enzimática en el método 2 (b)

(II) mejor y más completa extracción de la esterolina por medio de la ebullición acuosa continua después de la formación de pulpa del método 2 (c).

220.- Método 3 (a)

Se formó una pulpa con 3 kilos de bulbos de Hypoxis lavados y frescos y se mezcló con 2,7 litros de etanol absoluto. La mezcla se agitó vigorosamente durante una hora, y luego se filtró y el filtrado se secó por pulverización.

225.-

Esterolina no mensurable

Método 3 (b)

Se formó una pulpa fina con 3 kilos de bulbos de Hypoxis lavados frescos y se mezcló con 6 litros de una mezcla de etanol-agua al 60%. La pulpa diluída se agitó vigorosamente durante una hora, se filtró y el filtrado se secó por pulverización.

230.-

Esterolina no mensurable

Método 3 (c)

Se formó una pulpa con 3 kilos de bulbos de Hypoxis lavados y frescos, y se mezcló con 6 litros de una mezcla de

235.-



alcohol-agua al 60%. La pulpa diluida se enfrió durante 3 días, luego se filtró y el filtrado se secó por pulverización.

0,23 mg/100 grs.

- 240.- Conclusión: Los resultados de ambos métodos 3(a) y 3(b) indican que un corto período de extracción con etanol puro o una mezcla de etanol agua no extrae o moviliza ninguna cantidad de esterolina y que un procedimiento de secado por pulverización no provoca ninguna diferencia. La concentración más elevada de esterolina recuperada a través de un más largo período de extracción en condiciones refrigeradas indica que el tiempo desempeña un papel en la extracción con una mezcla de etanol agua, pero una comparación del método 3 (c) con el método 2 (b) indica que el etanol reduce considerablemente la cantidad de esterolina extraída en el mismo período, es decir 0,23 mg comparado con 5,75 mg de esterolina / 100 g de producto final.

Método 4 (a)

- Se colocaron 3 kilos de bulbos de Hypoxis rooperi lavados frescos en un recipiente cerrado en un cocedor a presión que contenía un litro de agua. Se llevó a ebullición a una presión de  $140 \times 10^{-2}$  kp/cm<sup>2</sup>. Se continuó la ebullición durante 30 minutos. Los bulbos tratados en el autoclave fueron luego convertidos en pulpa por medio de un homogeneizador con adición continua de un total de 6 litros de agua. No se aplicó más ebullición después de esta etapa y la pulpa acuosa se filtró. El filtrado secado por pulverización fué esencialmente un polvo rico en hidratos de carbono soluble en agua.

265.-

Solamente trazas



Método 4 (b)

Se colocaron 3 kilos de bulbos de *Hypoxis rooperi* en un recipiente cerrado en un cocedor a presión que contenía un litro de agua. Se llevó a ebullición a una presión de 270.-  $140 \times 10^{-2}$  kp/cm<sup>2</sup>. La ebullición se continuó durante 30 minutos. Los bulbos tratados en el autoclave se convirtieron entonces en pulpa por medio de un homogeneizador con adición continua de un total de 6 litros de agua. La mezcla resultante de pulpa y agua se hirvió durante una hora después de lo 275.- cual se tamizó y el filtrado se secó por pulverización. El polvo resultante rico en esterolina de color pardo claro consistía esencialmente en hidratos de carbono solubles (sacrosa, glucosa, fructosa y almidones) y esterinas.

9,01 mg/100 grs.

280.- Conclusión: No se consiguió en el método 4 (a) una extracción eficaz de esterolina aunque se había eliminado la acción enzimática por la alta temperatura usada. El resultado del procedimiento de ebullición adicional en el método 4 (b) después de que se mezcló la pulpa con agua indica la necesidad de este procedimiento de extracción final en caliente 285.- (ebullición).

Efecto Terapéutico A:

Los productos obtenidos a partir de los métodos de extracción 1(a), 1(b), 2(a), 3(a), 3(b), y 4(a) no mostraron 290.- efecto terapéutico cuando se usaron en pacientes con hipertrofia benigna de la próstata. La dosificación usada fué de 3 cápsulas diarias, una después de cada comida. Cada cápsula contenía 100 mg de polvo secado por pulverización, y la dosis diaria combinada de esterolina fué menor de 0,01 mg de 295.- esterolina en todos los casos.



Efecto Terapéutico B:

El polvo secado por pulverización obtenido a partir de los métodos de extracción 2(b), 2(c) y 4(b) se usó para el tratamiento de pacientes con síntomas de hipertrofia benigna de la próstata. Después de dos semanas de medicación todos los pacientes presentaron una mejora subjetiva de sus síntomas. Un examen después de 4 semanas de tratamiento reveló que el volumen de orina retenida había decrecido para todos los pacientes. En tratamiento más prolongados (3 meses) se encontró una reducción en el tamaño de la glándula prostática inflamada.

Dosificación:

3 cápsulas del extracto por día, una después de cada comida. Cada cápsula contenía 100 mg del extracto con 0,005 mg a 0,009 mg de contenido de esterolina (calculado como Beta-D-glucósido de Beta-sitoesterilo). Esto proporcionó una dosis efectiva diaria de 0,015 mg a 0,027 mg de esterolina.

Método 5

Raíces de la Beta Vulgaris L., subesp. varietas conditiva (la remolacha de jardín) tratadas como en el método de extracción 4(b) proporcionaron un polvo rojo oscuro con un contenido en esterolina en promedio de 0,015% calculado como B-D-glucósido de B-sitoesterilo.

Efecto Terapéutico

Se trataron pacientes con síntomas de hipertrofia benigna de la próstata con el extracto de Beta Vulgaris. Las mejoras subjetivas y objetivas de todos los pacientes fueron similares a las descritas en el efecto terapéutico B.

Dosificación:

3 cápsulas de extracto por día una después de cada co-



mida. Cada cápsula contenía 50 mg de extracto con una medida de 0,0075 mg de contenido en esterolina. Esto proporcionó una dosis media diaria de 0,0225 mg de esterolina.

Método 6

- 330.- Se homogeneizaron pieles de patata y la pulpa se introdujo directamente en agua hirviendo y se continuó la ebullición o calentamiento durante 30-60 minutos para efectuar la extracción de esterolina. El caldo se filtró, el filtrado se concentró por ebullición y el concentrado se secó por pulverización finalmente para dar un extracto rico en esterolina.
- 335.-

Método 7

- Se pasteurizó zumo de naranja recién exprimido (60-80°C) inmediatamente de exprimido del fruto. El zumo puede luego seguirse tratando por la adición de preservativos o enfriamiento y envasado para su eventual consumo. El zumo así preparado contendrá virtualmente la totalidad de las esterolinas que fueron exprimidas con el zumo, pero la mayor parte de las esterolinas presentes originalmente habrán permanecido en el residuo sólido (pulpa) ya que sólo un proceso de ebullición extenso habría solubilizado estas esterolinas. El proceso de pasteurización (calentamiento rápido durante segundos seguido de enfriamiento rápido) tiene poco efecto sobre el gusto del zumo.
- 340.-
- 345.-

Referencias bibliográficas que se citan en esta memoria.

- 350.- 1. T.Galliard; Phytochemistry, 1968, 7, 1915-1922.  
The identification and quantitative analysis of lipids from the pulp of pre- and post climacteric apples.
2. M. Lepage; Lipids, 1968, 3, 477-487.  
The lipid components of white potato tubers (solanum tuberosum).
- 355.-



3. T. Galliard; *Phytochemistry*, 1968, 7, 1907-1914.  
Identification and quantitative determination of the liquids in potato tuber.
- 360.- 4. W. Eichenberger, E.C. Grob; *Fed. Eur. Biochem. Soc. Letts*, 1970, 11, 177-180. Uber die quantitative Bestimmung von Sterinderivaten in Pflanzen unde die intrazelluläre Verteibungder Steringlykoside in Blättern.
5. A.J.N. Bolt, R.E. Clark; *Phytochemistry*, 1970, 9, 819-822. Cholesterol glucoside in tabacco.
- 365.- 6. A.C. Thompson, R.D. Henson, R.C. Gueldner, P.A. Hedin; *Lipids* 1970, 5, 283-284. Sterol galactosides and sterol esters of the cotton bud.
- 370.- 7. N.J. Morris, L.S. Lee; *Agric. y Good Chem.*, 1961, 9, 401-403. Isolation and identification of a sterol glucoside from peanut flour.
8. R.M. Ma, P.S. Schaffer; *Arch. Biochem. Biophys.*, 1953 47, 419-423. B-Sitosteryl D-glucoside and B-sitosterol from commercially dried grapefruit pulp.
- 375.- 9. W. Eichenberger, W. Meuke; *Naturfroschung*, 1966, 216, 859-867. Sterola in Blättern and Chloroplasten.
10. T. Kiribuchi, T. Mizunaga, S. Funahashi; *Agr. Biol. Chem. (Japan)* 1966, 30, 770-778. Separation of soybean sterols by flonosil chromatography and characterisation of acylated steryl glucosides.
- 380.- 11. G. Schöpflin, H. Kimpler, R. Hänsel; *Planta Médica*, 1966, 14, 402-407. B-Sitosterin als möglicher Wirkstoff der Sobalfrüchte.
- 385.- 12. A. Stoll, E. Jucker en 'Modern Methods of Plant Analysis'. Vol. 3, Editores K. Paech. M.V. Tracey; Springer, Nerlin, 1955, 141-176.



13. E. Jantzen, W. Goldes, Biochem. Z., 1934, 273, 167-171.  
Über das Vorkommen von glucosidisch gebundenen Sterinen  
im Sojaöl.
14. F.B. Power, A.H. Solway; J. Chem.Soc., 1913, 103, 399-  
390.- 406. The identification of ipuranol and some allied com-  
punds as phytosterol glucosides.
15. W. Karrer en 'Konstitution und Verkommen der organischen  
Pflanzenstoffe, Birkhäuser, Basel, 1958, 844-862.
16. I. Bartov, P. Budowski, S.Bornstein; Poultry Sci., 1970  
395.- 49, 1501-1506. Anticholesterolic effects of unsaponifia-  
ble fractions of vegetable oil in chick II. Comparative  
evaluation of various oils.
17. C. Grunwald; Plant Physiol, 1971. 48, 653-655. Effects  
of free sterols steryl esters and steryl glycosides on  
400.- membrane permeability.
18. E. Heftmann; Lipids. 1971, 6. 128-133. Functions of ste-  
rols in plants.
19. W. Sucrow; Tetrahedron Letters; 1965, 2217-2221 Über Ste-  
ringlucoside und ein neues Stigmastadienol aus Momordica  
405.- charantia.
20. L. Swell, E. Stutzman, R.D. Law, C.R. Treadwell; Arch.  
Biochem.Biophys, 1962, 97, 383-386. Intestinal absorption  
of cholesteryl-4-C<sup>14</sup>-D-glucoside.
21. S.H. Ambike, M.R.Rajarama Rao; Indian J. Pharm., 1967, 29,  
410.- 91-94. Studies on a phytosterolin from the bark of Ficus  
religiosa.
22. V.C. Dewey, G.W. Kidder; Pharmacol., 1962, 11, 53-56.  
Biological activity of sterol glycosides.
23. G.H. Rothblat, P.F. Smith; J. Bacteriology, 1961, 82,  
415.- 479;491. Nonaponifiable lipids of representative pleu-



- ronenmonia like organisms.
24. B.A. Nagapampagi, J.W. Rowe. R. Simpson, L.J. Good;  
Phytochemistry, 1971, 10, 1101-1107. Sterols of coffee.
25. J. Tsukamoto, A. Yagi. K. Mihashi, Y. Mori; Chem. Pharm.  
420.- Bull (Tokoyo), 1968, 16, 2123-2129. Examinations of non  
Glycosidal sterols and triterpenes in crude drugs.
26. a) L.J. Goad, páginas 159-190 y b) T.W. Goodwin páginas  
7-23 en 'Terpenoids in Plants' Editor J. B. Pridham,  
Academic, Londres, 1967.
- 425.- 27. W. Bergmann; Ann. Revs. Plant Physiol; 1953. 4 ,  
383-425. The plant sterols.
28. H. Singh, O.S. Privett; Lipids, 1970, 5, 692-697  
Studies on the glycolipids and phospholipids of  
immature soybeans.
- 430.- 29. W. Eichenberger, R.C. Gros; Chimia, 1969, 23, 368-  
369 Zur enzymatischen Bildung van Acyl-Sterin gly-  
cosid in Pflanzen.
30. M. Lepage; J. Lipid Res., 1964, 5, 587-592. Isola-  
435.- tion and characterisation of an esterified form of  
steryl glucoside.
31. F.F. Knapp, H.J. Nicholas; Phytochemistry, 1971,  
10, 85-95. The Biosynthesis of phytosterols in  
Munsa sapientum.
32. W. Bergmann en 'Comparative Biochemistry' Vol. 3,  
440.- Editores M. Kosken, K.S. Mason, Academic. N. Y.  
1962, 103-163.
33. C.J.W. Brooks en "Rodd's Chemistry of Carbon Com-  
pounds' 2ª Edición, Vol. II parte D. Editor C. Co-  
ffey, Elsevier. Amsterdam, 1970, 132-169.



445.- N O T A.-  
\*\*\*\*\*

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

- 1º.- Perfeccionamientos introducidos en un método de fabricación de un producto rico en esterolinas que consiste en esencia en las operaciones de: triturar un material vegetal que contiene esterolinas y desactivar los sistemas enzimáticos degradantes específicos de las esterolinas por calentamiento del material en un paso no posterior al que sigue inmediatamente a la trituración a una temperatura de al menos 60º, caracterizados porque comprenden extraer las esterolinas del material triturado en solución acuosa por ebullición del material triturado en agua durante un período continuo de, al menos, treinta minutos, separación de la solución extracto del material triturado y concentración de la solución extracto.

- 2º.- Perfeccionamientos según el punto 1º, caracterizados porque la operación de calentamiento se realiza inmediatamente después de la trituración, elevándose rápidamente la temperatura del material hasta un valor, al menos, del orden de 60º.

- 3º.- Perfeccionamientos según el punto 1º, caracterizados porque las operaciones de calentamiento y extracción se hacen coincidir, añadiéndose el material triturado al agua hirviente inmediatamente después de la trituración.

- 4º.- Perfeccionamientos según el punto 1º, caracterizados porque el producto es un polvo, comprendiendo la operación de concentración, concentrar la solución extracto a sequedad.

- 5º.- Perfeccionamientos según el punto 4º, caracteriza-

- 18 - 41258117 OCT 1975



dos porque la solución extracto se seca por pulverización.

62.- "PERFECCIONAMIENTOS INTRODUCIDOS EN UN METODO DE FABRICACION DE UN PRODUCTO RICO EN ESTEROLINAS", todo tal y conforme se describe en la presente Memoria, la cual consta de 480 líneas.

Madrid, 17 OCT. 1975