

MINISTERIO DE INDUSTRIA Y ENERGIA

Registro de la Propiedad Industrial



ESPAÑA

Concedido el Registro de acuerdo con los datos que figuran en la presente descripción y según el contenido de la Memoria adjunta,

10	ES	11	NUMERO	12	A1
		21	469227		
		22	FECHA DE PRESENTACION		
			27 ABR. 1978		

20 OCT. 1978

PATENTE DE INVENCION

40	PRIORIDADES:	42	FECHA	43	PAIS
	41) NUMERO				
	P 27 18 797.9		27 Abril 1977		República Federal de Alemania

47	FECHA DE PUBLICIDAD	51	CLASIFICACION INTERNACIONAL	62	PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
			C07G 7/022 // A2357/02 ; A61K 37/02		

54	TITULO DE LA INVENCION
	"Procedimiento para la obtención de fosfatidilcolinas aceites altamente purificadas"

71	SOLICITANTE (S)
	A. NATTERMANN & CIE. GmbH.

	DOMICILIO DEL SOLICITANTE
	Nattermannallee 1, 5000 Köln-30, República Federal de Alemania

72	INVENTOR (ES)
	Hans Betzing

73	TITULAR (ES)

74	REPRESENTANTE
	M. Curell Suñol

A. Nattermann & Cie. 11A-50 732
EX-DT

BAD ORIGINAL

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

por VEINTE años

5. solicitada en España a favor de NATTERMANN & COE. GmbH., de nacionalidad alemana, domiciliada en Nattermannallee 1, 5000 Köln-30, República Federal de Alemania, por "Procedimiento para la obtención de fosfatidilcolinas aceitosas altamente purificadas", con prioridad de la solicitud alemana P 27 18 797.9 de fecha 27 Abril 1977. - - - - -

10.

MEMORIA DESCRIPTIVA

15. A través de la patente alemana 1 617 679 es conocido un procedimiento para la obtención de fosfatidilcolina altamente purificada con un elevado contenido de ácidos grasos esenciales de lecitinas vegetales mediante la adsorción de los fosfatidos en óxido de aluminio y extracción mediante alcohol, el cual está caracterizado porque los fosfatidos brutos aceitosos se disuelven en acetato de etilo o en un hidrocarburo diclorado con 1 a 2 átomos de carbono o mezclas de estos disolventes, pudiendo contener el disolvente hasta un 6% en volumen de alcohol y tratándose luego la solución con por lo menos 5 veces la cantidad de óxido de aluminio en relación con el contenido de fosfati-
- 20.

do bruto, mediante agitación, separándose luego del óxido de aluminio separado mediante alcohol la fosfatidilcolina altamente purificada. Según la patente alemana 1 617 680, la solución de los fosfátidos brutos aceitosos se introduce en una columna de óxido de aluminio y la fosfatidilcolina químicamente pura se separa mediante alcohol del adsorbente. Ahora se ha descubierto sorprendentemente que no es necesario tratar los fosfátidos brutos aceitosos con acetato de etilo o hidrocarburos diclorados sino que el fosfátido bruto también se puede extraer con alcoholes inferiores con 1 a 3 átomos de O, a continuación de lo cual este extracto se trata directamente con el óxido de aluminio y el fosfátido adsorbido se vuelve a separar nuevamente del óxido de aluminio mediante alcohol, al igual que en el procedimiento descrito en las dos patentes arriba indicadas. - - - - -

Por la patente suiza 361 088 y la patente US 2 945 869 se han dado a conocer ya procedimientos de purificación para la obtención de fracciones de fosfátidos de soja, para su utilización como emulgentes en emulsiones de g_{ra}sa de administración intravenosa. En las mismas se tratan soluciones alcohólicas de fosfátidos brutos, previamente desaceitados, mediante Al₂O₃· MgO o carbón activo, con el fin de empobrecer estas soluciones en su contenido de cefalina y de liberarlas sobre todo empíicamente de fosfátidos con contenido de inosita, los cuales producen una disminución de la presión sanguínea en la administración intravenosa en el gato. - - - - -

Sin embargo, este procedimiento exige siempre previamente un desaceitado previo de los fosfátidos brutos corrientes en el mercado, y solamente después se fabrican las soluciones alcohólicas, las cuales - independientemente del adsorbente con el que se tratan - posibilitan siempre sólo un empobrecimiento de cefalina. Mediante este procedimiento no puede conseguirse una separación más amplia o completa de la cefalina. - - - - -

10. A través de la patente alemana propia 1 053 299 es conocido, además, un procedimiento para la obtención de ésteres diglicéridos naturales del ácido colinafosfórico exentos de ésteres diglicéridos del ácido colinafosfórico mediante cromatografía de columna, utilizándose como adsorbente, entre otras cosas, también óxido de aluminio. En este procedimiento también se utiliza un extracto alcohólico del fosfátido bruto previamente desaceitado, consiguiéndose este desaceitado previo mediante una repetida extracción con acetona. - - - - -

20. En los procedimientos de la patente alemana 1 617 679 y de la DE-PS 1 617 680, las mezclas de fosfátidos brutos aceitosos se disuelven sin desaceitado previo en acetato de etilo o en un hidrocarburo clorado, y estas soluciones se tratan con óxido de aluminio. Aquí se produce en primer lugar un desaceitado de los fosfátidos brutos, mientras que la totalidad de los fosfátidos permanece en el adsorbente. A continuación, la fosfatidilcolina puede separarse se-

25.

lectivamente mediante el tratamiento del óxido de aluminio con alcohol. Con este procedimiento también se obtienen fosfatidilcolinas altamente purificadas y exentas de aceite. - - - - -

5. En comparación con ello, en el procedimiento según la invención las fosfatidilcolinas se obtienen con un elevado contenido de ácidos grasos esenciales en la molécula, conjuntamente con el aceite vegetal contenido en el fosfátido original. Ello es debido a que en la práctica ha resultado ser muy necesario fabricar soluciones aceitosas de fosfatidilcolinas altamente purificadas. Esto rige sobre todo para la aplicación en el campo farmacéutico, cuando se trata de hacer accesibles las fosfatidilcolinas altamente purificadas a una administración oral, por ejemplo en
10. la forma de cápsulas de gelatina. Recientes estudios de absorción con fosfatidilcolina marcada radioactivamente han mostrado que cuando se efectúa la administración oral de una forma de aplicación aceitosa de fosfatidilcolina con ácidos grasos predominantemente no saturados de manera múltiple, la absorción puede incrementarse de manera múltiple
15. en comparación con un preparado con contenido de agua. - -
- 20.

Un medio aceitoso excelente resulta ser en este caso el aceite vegetal natural que siempre está asociado a los fosfátidos, como el aceite de girasol o el aceite de soja, preferentemente mezclados con monoglicéridos y diglicéridos fabricados con los mismos aceites. De esta manera

25.

es posible obtener fracciones directamente líquidas, es decir, colables, de fosfatidilcolina, las cuales son también frecuentemente de gran utilidad para otras aplicaciones, por ejemplo en el campo de la cosmética y de la dietética.

5. Según el estado actual de la técnica, la fabricación de solución aceitosa capaz de fluir de fosfatidilcolina altamente purificada, adecuada para el llenado en cápsulas de gelatina, se efectúa de tal manera que una fosfatidilcolina exenta de aceite - como la obtenida según la patente alemana 1 617 679 - se mezcla nuevamente con el aceite vegetal natural obtenido en la purificación o con otro aceite de mesa, en su caso mediante el adiciónamiento de monoglicéridos o de ácidos grasos libres. Sin embargo, esto significa que para la separación de la cefalina y del fosfátido de inosita hay que eliminar en primer lugar antes o durante la operación de adsorción en el Al_2O_3 el aceite todavía adherido a las mezclas de fosfátidos. - - - - -
- 10.
- 15.

- Los procedimientos ya conocidos, tanto el procedimiento según la patente alemana 1 053 299, como también los procedimientos según la patente principal y la 1ª patente adicional, adolecen todavía, aparte de ser algo costosos, de inconvenientes adicionales. En el primer caso, cuando se efectúa el desaceitado con acetona de los fosfátidos brutos corrientes en el mercado, siempre se forman pequeñas cantidades de óxido de mesitilo, el cual se origina químicamente mediante la unión de dos moléculas de acetona y que
- 20.
- 25.

debido a su toxicidad y a su característico olor propio produce un efecto muy perturbador, aún en cantidades mínimas; y en el segundo caso se originan en el fraccionamiento cromatográfico de aceites y fosfolípidos siempre mezclas de disolventes que deben someterse a una destilación fraccionada antes de su reutilización. - - - - -

5. En la ejecución práctica del procedimiento según la invención, las lecitinas brutas corrientes en el mercado que todavía contienen del 20 al 40% aproximadamente de aceite, se extraen en primer lugar a temperaturas hasta 50°C con metanol, etanol o propanol, separándose por decantación las 2 fases que se forman al enfriarse la mezcla. La fase superior, rica en alcohol, es tratada a continuación con el óxido de aluminio mediante agitación o haciéndola pasar a través de una columna de cromatografía llenada con el adsorbente. En la elución con el alcohol resulta una fosfatidilcolina aceitosa y exenta de cefalina y de fosfatido de inosita con un elevado contenido de ácidos grasos esenciales. - - - - -

10. No podía preverse que - en contra del estado de la técnica - una solución alcohólica aceitosa de fosfatido fuese adecuada sin otro tratamiento previo para una separación cromatográfica en óxido de aluminio, no influyendo de ningún modo el elevado contenido de aceite de la solución sobre la adsorción de los fosfatidos ácidos. Este descubrimiento es tanto más sorprendente si se considera la escasa

15.

20.

25.

solubilidad de aceite en alcohol, lo cual debería producir durante el contacto con el óxido de aluminio, según cabía esperar, una separación del aceite de la fase de fosfatido y con ello un bloqueo de los centros activos del adsorbente. También cabía suponer que la adsorción de la fosfatidilcolina de la solución acuosa no se efectúa en una extensión suficiente, debido a que en los procedimientos conocidos se efectuaba la elución con este disolvente. - - - - -

Los extractos alcohólicos aceitosos utilizados en la ejecución del procedimiento según la invención, pueden obtenerse mediante el tratamiento único o repetido de los fosfatidos brutos con alcohol a temperaturas hasta el punto de ebullición del disolvente, convenientemente a 20 hasta 50°C. La separación de la mezcla de fases que se produce en este tratamiento, puede efectuarse mediante decantación o mediante centrifugación. Después de la agitación de la fase alcohólica superior con óxido de aluminio se agita luego con etanol durante algunos minutos el adsorbente separado de la solución y a continuación se separa en el decantador. Después del lavado con poco etanol, puede repetirse la operación otra vez, y el óxido de aluminio que contiene entonces los lípidos acompañantes se desecha o se regenera. En el caso de utilizarse una columna de cromatografía para separar los fosfolípidos ácidos, los concentrados aceitosos de fosfatidilcolina se obtienen mediante la elución de la columna con alcohol, convenientemente también con alcohol etílico. En caso necesario puede obtenerse entonces median

te el fraccionamiento del eluato que sale de la columna, en su caso, una reducción del contenido de aceite en la fracción de fosfatidilcolina. - - - - -

5. En los dos casos, tanto después de la agitación con óxido de aluminio como también después de la cromatografía de columna, las soluciones alcohólicas obtenidas según el procedimiento - en su caso después del filtraje con una pequeña cantidad de celita como ayuda para el filtraje - se liberan del disolvente bajo vacío, bajo la protección de un gas inerte. Entonces se obtiene una fracción aceitosa altamente pura de fosfatidilcolina natural, la cual está exenta de cefalina o muy empobrecida en cuanto a esta última, con un contenido de ácidos grasos esenciales del 66 hasta más del 70%. - - - - -

15. Para la extracción de los fosfátidos brutos aceitosos y para la ejecución del procedimiento cromatográfico según la invención, son adecuados los alcoholes inferiores con 1 a 3 átomos de C, preferentemente alcohol etílico, también mezclado con reducidas cantidades de agua con un contenido del 85 al 96% de alcohol, siendo esta última concentración particularmente favorable por ser corriente en el mercado. - - - - -

25. Como adsorbante pueden utilizarse óxidos básicos y neutrales de aluminio, preferentemente, empero, óxidos básicos de aluminio del escalón de actividad 1 - 3 y estan

dardizados según Brockmann. - - - - -

5. El procedimiento según la invención posibilita ahora liberar las fracciones aceitosas de fosfátidos mediante un sencillo tratamiento con óxido de aluminio en una columna de cromatografía o mediante agitación con conservación de la fase aceitosa de la celfalina y del fosfátido de inosita y fabricar fracciones aceitosas de fosfatidilcolina con un elevado contenido de ácidos grasos esenciales en una sola etapa de procedimiento. - - - - -

10. Los productos del procedimiento según la invención poseen en virtud de su elevada parte de fosfatidilcolina más del 90% de la fracción de fosfátidos - con un contenido de más del 70% de ácidos grasos esenciales dentro del marco de los ácidos grasos totales - una valiosa eficacia terapéutica sobre el metabolismo en la administración oral de dosis 15. muy bajas de 2 gramos por día en muchos cuadros patológicos como arteriosclerosis, diabetes o hiperlipemias, la cual está basada, por ejemplo, en la reducción de los valores patológicamente altos de grasa en la sangre. - - - - -

20. Las fracciones aceitosas altamente purificadas de fosfatidilcolina obtenidas según el procedimiento a base de fosfátidos brutos corrientes, muestran la siguiente composición analítica típica: - - - - -

Contenido en aceite: 15 - 30%
Fósforo total: 2,4- 2,75%
Colina: 9,5- 10,8%

Proporción de moles fósforo : colina: 0,996%

5. El análisis cromatográfico de gases de los ácidos grasos muestran los siguientes valores medios: - - - - -

a) fracción aceitosa de fosfatidilcolina según la invención
b) fracción desaceitada de fosfatidilcolina

	de fosfatido de soja	de fosfatido de girasol	soja	girasol
C ₁₆	13,7%	9,8%	15,0%	10,0%
C ₁₈	3,0%	4,0%	3,3%	3,5%
C _{18:1}	13,0%	14,0%	10,0%	14,0%
C _{18:2}	63,5%	72,2%	65,5%	72,5%
C _{18:3}	6,8%	-	6,2%	-

El procedimiento según la invención se describe a continuación más detalladamente con ayuda de algunos ejemplos. - - - - -

5. Ejemplo 1

a) Fabricación de la solución de fosfatido estándar aceitoso de girasol. 1 kg de fosfatido bruto de girasol con un contenido de aceite del 15% se agitan con 5 l de etanol durante 1 hora bajo atmósfera de nitrógeno a 40°C. Después de 1 hora de reso-

so a la temperatura ambiente interior, la fase superior, rica en etanol, específicamente más ligera, se separa en el embudo de decantación de la fase inferior viscosa. - - - -

b) Tratamiento con Al_2O_3

5. 1,5 l de la fase superior obtenida según a) con un contenido de sustancia de 75 g y 30 g de aceite de girasol se agitan fuertemente con 300 g de Al_2O_3 durante 2,5 horas a la temperatura ambiente interior bajo la protección de N_2 . Después de depositarse el adsorbente, se efectúa la decantación de la solución de etanol y se lleva a cabo el lavado 2 veces del Al_2O_3 con 150 ml de etanol cada vez. Las soluciones reunidas de etanol se filtran después de haber añadido mediante agitación 1 g de celita como ayuda de filtraje, y el disolvente se separa mediante destilación al vacío bajo nitrógeno con una temperatura del baño de 40°C. Resultan 45 g de una fracción viscosa y aceitosa de fosfatidilcolina, la cual está prácticamente exenta de cefalina y que presenta la siguiente composición:
- 10.
- 15.
- 20.

Contenido de aceite	30%
Contenido de fosfatidilcolina	64%

Ejemplo 2

1 litro de una fase superior fabricada de fosfáti

do bruto de habas de soja mediante extracción de etanol tal como se ha descrito en el ejemplo 1 a) con un contenido de sustancia de 53 g, la cual contiene el 27% de aceite de soja, se agita fuertemente con 280 g de Al_2O_3 durante 4 horas bajo una atmósfera de gas inerte. Después de depositar se el adsorbente, se separa la solución de etanol, se lava 2 veces al Al_2O_3 con 150 ml de etanol cada vez, y se efectúa el filtraje claro de los extractos etanólicos reunidos, en su caso mediante el adiciónamiento de callita. Después de la evaporación del disolvente al vacío bajo protección de nitrógeno, resultan 33 g de una fracción plástica blanda de fosfatidilcolina, de color amarillo, exenta de cefalina, que puede transformarse en una forma colable mediante el adiciónamiento de aceite o de glicéridos parciales con más del 50% de ácidos grasos no saturados y que presenta la siguiente composición: - - - - -

Aceite de soja:	25%
Contenido de fosfatidilcolina	68%

Ejemplo 3

20. 1,3 litros de una solución etanólica de fosfátido de soja al 4,1% con un contenido de aceite del 28% -tal como se obtiene como fase superior en extracción con etanol de fosfátido bruto aceitoso de habas de soja a 25°C - se introducen bajo protección de N_2 en una columna de cromatografía de 31 mm de diámetro y 400 mm de altura, la cual es

25.

5. tá llenada con una suspensión de 280 g de Al_2O_3 en etanol. Después del paso de la solución, el adsorbente se lava posteriormente todavía con 350 ml de alcohol. Los extractos de etanol reunidos se liberan del disolvente al vacío bajo la protección de un gas inerte a 40°C de temperatura de baño. Resultan 35 g (68%) de una fracción altamente purificada de fosfatidilcolina, completamente exenta de cefalina, con un contenido de aceite del 29% y un contenido de fosfatidilcolina del 70%. - - - - -

10. Ejemplo 4

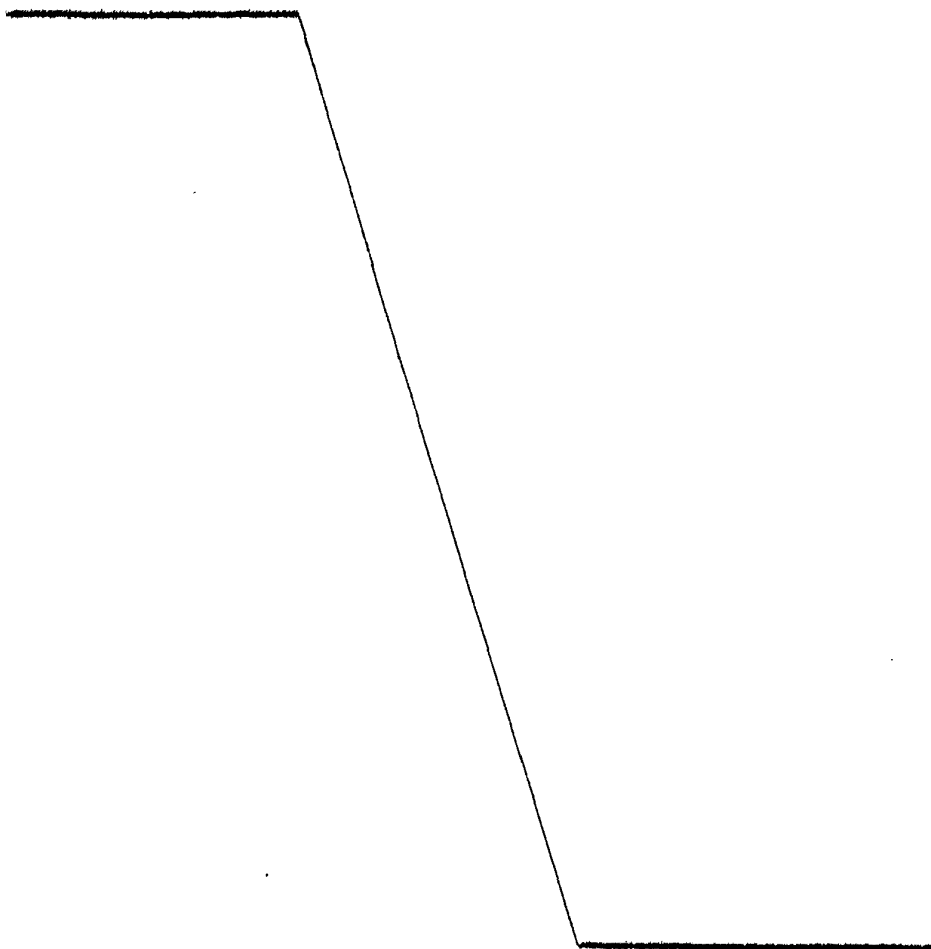
15. 400 g de fosfátido bruto de habas de soja se extraen 2 veces con 1000 ml de metanol durante 30 minutos a 40°C cada vez. Los extractos de metanol reunidos presentan después del enfriamiento a la temperatura ambiente interior un contenido seco del 9%, el contenido de aceite es del 12% y el contenido de fosfatidilcolina es del 33%. - - - - -

20. Un litro de esta solución metanólica se introduce bajo la protección de un gas inerte en una columna de cromatografía, la cual está llenada con una suspensión de 500 g de óxido de aluminio. Después del paso de la solución se efectúa todavía un lavado posterior del adsorbente en la columna con 700 ml de metanol. Los eluatos reunidos de metanol se condensan mediante evaporación en vacío bajo la protección de un gas inerte a 40°C. Resultan 55 g de un producto 25. plástico amarillo, el cual está completamente exento de ca

falina, con un contenido de aceite del 30% y con un 66% de fosfatidilcolina. Después del adicionamiento de mono-diglicéridos con un contenido de ácidos grasos no saturados de más del 50%, se obtiene un concentrado colable y aceitoso de fosfatidilcolina. - - - - -

5.

A los efectos consiguientes se declaran de novedad y propiedad para España, sus territorios y plazas de soberanía, las reivindicaciones que siguen. - - - - -



REIVINDICACIONES

5. 1.- Procedimiento para la obtención de fosfatidil colinas aceitosas altamente purificadas, con un elevado contenido de ácidos grasos esenciales por extracción de fosfátidos brutos aceitosos corrientes en el mercado mediante disolventes orgánicos y adsorción en óxido de aluminio o en una columna de óxido de aluminio y separación de la fosfatidilcolina mediante alcohol, caracterizado porque el fosfátido bruto aceitoso se extrae mediante un alcohol inferior con 1 a 3 átomos de C y el extracto de fosfátido aceitoso obtenido se trata directamente con el óxido de aluminio. - - - - -

10.

2.- "PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCION DE FOSFATIDIL COLINAS ACEITOSAS ALTAMENTE PURIFICADAS". - - - - -

15. Todo ello conforme se describe y reivindica en la presente memoria que consta de quince hojas foliadas y mecanografiadas por una sola de sus caras.

MADRID 27 ABR. 1978

B.A. M. CURELL SUÑER