



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẢNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN) (11)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ



1-0044765

(51)^{2020.01} **A23L 33/155**; C07C 65/00; A61K 31/59; (13) **B**
A23L 33/00; A61K 31/19

(21) 1-2021-00383

(22) 25/06/2019

(86) PCT/US2019/038948 25/06/2019

(87) WO2020/263229 30/12/2020

(30) 62/689,305 25/06/2018 US

(45) 25/04/2025 445

(43) 25/10/2021 403A

(71) METABOLIC TECHNOLOGIES, INC. (US)

2711 South Loop Drive, Suite 4400, Ames, Iowa, United States of America

(72) RATHMACHER, John (US); PUPURA, Martin (DE).

(74) Công ty Luật TNHH T&G (TGVN)

(54) CHẾ PHẨM CÓ TÍNH AXIT ỔN ĐỊNH CHỨA B-HYDROXY-B-METYL BUTYRAT (HMB) VÀ PHƯƠNG PHÁP LÀM ỔN ĐỊNH HOẶC GIẢM THIỂU SỰ PHÂN HỦY VITAMIN D TRONG CHẾ PHẨM NÀY

(21) 1-2021-00383

(57) Sáng chế đề cập đến chế phẩm bao gồm chế phẩm có tính axit chứa β -hydroxy- β -methylbutyrat (HMB), tốt hơn là ở dạng axit tự do, vitamin D và tá dược làm ổn định, trong đó vitamin D được làm ổn định chống lại sự phân hủy.

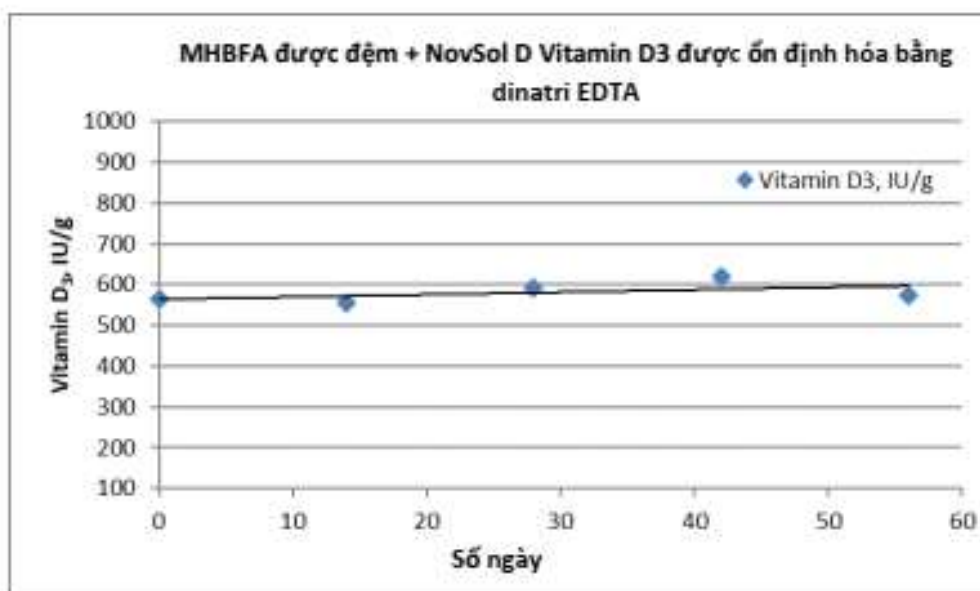


Fig. 1. Độ ổn định của Vitamin D₃ trong công thức 7 chứa HMB axit tự do được đệm + NovaSol D ® Vitamin D₃ được bảo vệ (AquaNova, Đức) được ổn định hóa bằng 60 ppm dinatri EDTA (Chất tạo chelat Versene™ NA, Dow Chemical, Midland, MI)

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến chế phẩm chứa β -hydroxy- β -metylbutyrat (HMB) và vitamin D. Cụ thể, sáng chế đề cập đến các chế phẩm chứa HMB và vitamin D và các phương pháp làm ổn định vitamin D khi vitamin D được kết hợp với các chế phẩm có tính axit.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Về mặt kinh điển, vitamin D có liên quan đến sự chuyển hóa canxi và phospho và sự cứng chắc xương. Cho tới gần đây, mức vitamin D thích hợp đã được xác định bằng cách sử dụng bệnh còi xương do thiếu vitamin D. Trong những năm gần đây, vitamin D đã được phát hiện là có tác dụng rộng rãi hơn đối với sự chuyển hóa khác ngoài canxi và cấu trúc xương. Tình trạng vitamin D thấp có liên quan đến các bệnh sau đây: bệnh loãng xương, chứng ngã, bệnh tiểu đường typ I, bệnh ung thư, bệnh tự miễn, chứng tăng huyết áp, bệnh nha chu, bệnh đa xơ cứng, sự miễn cảm/đáp ứng kém với nhiễm trùng¹.

Sự thiếu hụt vitamin D là vấn đề toàn cầu, vì sự tiếp xúc với ánh nắng mặt trời giảm và sử dụng kem chống nắng tăng làm cho vấn đề này càng trầm trọng. Chế độ ăn và sức khỏe cũng có thể là những yếu tố làm giảm nhẹ các mức vitamin D. Các đối tượng bị các hội chứng kém hấp thu chất béo, bệnh mạn tính, đang sử dụng các loại thuốc nhất định, hoặc bệnh béo phì có nguy cơ thiếu hụt vitamin D cao hơn². Màu da cũng có thể có tác động, vì màu da càng tối thì thời gian cần để sản sinh ra cùng lượng vitamin D càng lâu. Do đó, bổ sung là cách tốt nhất để làm tăng vitamin D và giảm bệnh tật². Cholecalciferol (Vitamin D₃) có thể được con người tổng hợp thông qua chiếu xạ 7-dehydrocholesterol trong da hoặc được chiết xuất từ lanolin.

Rất ít các thực phẩm có trong tự nhiên chứa Vitamin D nhưng thịt của cá béo và dầu gan cá là các nguồn tốt nhất. Các lượng nhỏ Vitamin D đã được tìm thấy trong gan bò, các sản phẩm từ sữa và mỗi lòng đỏ trứng. Một số loại nấm cung cấp Vitamin D₂ nhưng số

lượng có thể thay đổi. Vì Vitamin D chỉ được chứa trong một vài thực phẩm và thường ở các lượng nhỏ, nên việc bổ sung vào thực phẩm hoặc bổ sung thông qua thực phẩm bảo vệ sức khỏe là cần thiết. Từ năm 1930, các nhà máy sản xuất thực phẩm và đồ uống đã bắt đầu tăng cường cho thực phẩm như, sữa, bánh mì, xúc xích, nước soda và thậm chí cả bia. Vitamin D cũng sẵn có trong các thực phẩm bảo vệ sức khỏe.

Vitamin D₃ là phân tử sterol lớn và kỵ nước với khả năng hòa tan trong nước kém, dễ dàng bị phân hủy bởi ánh sáng và oxy. Độ ổn định của vitamin D là vượt trội khi không có mặt nước, ánh sáng, tính axit và tại nhiệt độ thấp³. Đồng phân 5,6-trans và isotachysterol có thể tạo thành khi được tiếp xúc với axit và ánh sáng⁴. Vitamin ít mẫn cảm với ánh sáng hơn vitamin A nhưng sự oxy hóa Vitamin D có thể là con đường chiếm ưu thế cho sự phân hủy tại hệ liên kết đôi được liên hợp tại vị trí 5,6 và 7,8 của cấu trúc secosteroid³. Vitamin D khá ổn định trong các quy trình được sử dụng để sản xuất sữa lỏng hoặc trong quá trình sản xuất sữa khô không béo⁴. Không quan sát thấy sự mất mát đáng kể nào với hơi được phun tại 95°C⁵. Gần đây, Vitamin D đã được phát hiện là ổn định trong nước ép cam mà có độ pH xấp xỉ bằng 4⁶. Độ sinh khả dụng này cũng sẵn có như khi được tiêu thụ ở dạng viên nang. Tuy nhiên, độ ổn định lâu dài của Vitamin D₃ tại độ pH bằng 4 và thấp hơn đã không được xác định.

HMB

Alpha-ketoisocaproate (KIC) là chất chuyển hóa chính và hoạt động thứ nhất của leuxin. Sản phẩm phụ của sự chuyển hóa KIC là β -hydroxy- β -methylbutyrate (HMB). HMB đã được phát hiện là hữu dụng trong nhiều loại ứng dụng khác nhau. Cụ thể là, trong Patent Mỹ số 5,360,613 (Nissen), HMB được mô tả là hữu dụng để làm giảm các nồng độ cholesterol tổng số và lipoprotein cholesterol tỉ trọng thấp trong máu. Trong Patent Mỹ số 5,348,979 (Nissen et al.), HMB được mô tả là hữu dụng để thúc đẩy sự duy trì nitơ ở người. Patent Mỹ số 5,028,440 (Nissen) thảo luận tính hữu dụng của HMB trong việc làm tăng sự phát triển mô ở động vật. Ngoài ra, trong Patent Mỹ số 4,992,470 (Nissen), HMB được mô tả là có hiệu quả trong việc tăng cường sự đáp ứng miễn dịch của động vật có vú. Patent Mỹ số 6,031,000 (Nissen et al.) mô tả việc sử dụng HMB và ít nhất một axit amin để điều trị sự hao mòn do bệnh tật.

Việc sử dụng HMB để ức chế sự phân giải protein bắt nguồn từ các quan sát thấy rằng leuxin có các đặc tính tiết kiệm protein. Axit amin thiết yếu leuxin có thể được sử dụng để tổng hợp protein hoặc được chuyển hóa amin thành α -ketoaxit (α -ketoisocaproat, KIC). Ở một con đường, KIC có thể được oxy hóa thành HMB và điều này chiếm khoảng 5% của quá trình oxy hóa leuxin. HMB là vượt trội hơn leuxin trong việc tăng cường khối lượng và độ khỏe của cơ. Các tác dụng tối ưu của HMB có thể đạt được tại mức 3,0 gam mỗi ngày khi được cung cấp ở dạng muối canxi của HMB, hoặc 0,038g/kg khối lượng cơ thể mỗi ngày, trong khi các tác dụng tối ưu của leuxin yêu cầu trên 30,0 gam mỗi ngày.

Ngay khi được sản sinh hoặc được ăn vào, HMB dường như có hai số phận. Số phận thứ nhất là sự bài tiết đơn giản trong nước tiểu. Sau khi HMB được cho ăn, nồng độ trong nước tiểu tăng lên, dẫn đến mất khoảng 20-50% HMB vào nước tiểu. Số phận khác liên quan đến sự hoạt hóa HMB thành HMB-CoA. Ngay khi được chuyển hóa thành HMB-CoA, sự chuyển hóa thêm có thể xảy ra, sự khử nước của HMB-CoA thành MC-CoA, hoặc sự chuyển hóa trực tiếp HMB-CoA thành HMG-CoA, mà cung cấp các chất cho sự tổng hợp cholesterol nội bào. Một số nghiên cứu đã chỉ ra rằng HMB được kết hợp vào con đường tổng hợp cholesterol và có thể là nguồn cho màng tế bào mới mà được sử dụng để tái sinh các màng tế bào bị hư hại. Các nghiên cứu trên người đã chỉ ra rằng sự tổn thương cơ sau khi luyện tập cường độ cao, được đo bằng CPK (creatin phosphokinaza) huyết tương tăng, được giảm bằng việc bổ sung HMB trong vòng 48 giờ đầu. Tác dụng bảo vệ của HMB kéo dài lên đến ba tuần với việc sử dụng hàng ngày liên tục. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra liều có hiệu quả của HMB là 3,0 gam mỗi ngày ở dạng CaHMB (canxi HMB) ($\sim 38 \text{ mg} \cdot \text{kg}$ khối lượng cơ thể⁻¹•ngày⁻¹). HMB đã được thử nghiệm về độ an toàn, chỉ ra không có tác dụng phụ ở người trẻ hoặc người già khỏe mạnh. HMB kết hợp với L-arginin và L-glutamin cũng đã được chứng tỏ là an toàn khi được bổ sung cho các bệnh nhân AIDS và bệnh nhân ung thư.

HMB axit tự do (“HMBFA”), dạng phân phối của HMB, đã được phát triển. Dạng phân phối này đã được chứng minh là được hấp thụ nhanh hơn và có sự thanh thải mô lớn hơn so với CaHMB. Dạng phân phối này được mô tả trong Công bố patent Mỹ số 20120053240 mà được kết hợp toàn bộ ở đây bằng cách viện dẫn.

HMB đã được chỉ ra là có hiệu quả làm tăng khối lượng cơ, tăng độ mạnh, và cải thiện chức năng hoạt động của cơ. Các tác dụng này là có ý nghĩa nhất khi các mức vitamin D trong máu đủ, mà đã được xác định thêm là xung quanh ít nhất 25 ng/ml hoặc cao hơn.

Do đó, mong muốn kết hợp HMB với vitamin D để tối đa hóa các tác dụng của HMB đối với khối lượng, độ mạnh và hoạt động của cơ. Tuy nhiên, đã phát hiện ra rằng vitamin D, và cụ thể là vitamin D₃, không ổn định khi được kết hợp với chế phẩm có tính axit, bao gồm HMB ở dạng axit tự do (HMBFA). Các mức Vitamin D trong chế phẩm chỉ chứa HMBFA và Vitamin D phân hủy đáng kể theo thời gian. Vì HMBFA có thể ở dạng phân phối có hiệu quả hơn của HMB đối với tác dụng lên cơ, mong muốn kết hợp HMBFA với Vitamin D để tối đa hóa hiệu quả của HMB. Do đó, vẫn có nhu cầu phát triển chế phẩm ổn định chứa HMBFA và vitamin D. Vì vậy, đã khám phá ra rằng Vitamin D được làm ổn định chống lại sự phân hủy trong các chế phẩm có tính axit, bao gồm các chế phẩm chứa HMB với việc bao gồm ít nhất một tá được làm ổn định.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Một mục đích của sáng chế là đề xuất chế phẩm chứa HMBFA và vitamin D mà ổn định.

Mục đích khác của sáng chế là đề xuất chế phẩm chứa HMBFA và vitamin D, trong đó vitamin D không giảm đáng kể theo thời gian.

Các mục đích này và các mục đích khác của sáng chế sẽ trở nên rõ ràng đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật khi tham chiếu đến bản mô tả, các hình vẽ và các điểm yêu cầu bảo hộ sau đây.

Sáng chế nhằm để khắc phục các khó khăn gặp phải trước đây. Do đó, chế phẩm chứa HMBFA và vitamin D được đề xuất.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig. 1 mô tả độ ổn định của Vitamin D trong Công thức 7.

Fig. 2 mô tả độ ổn định của Vitamin D trong Công thức 10.

Fig. 3 mô tả độ ổn định của Vitamin D trong Công thức 11.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế bộc lộ các chế phẩm để cải thiện độ ổn định của Vitamin D khi Vitamin D được kết hợp với HMB. Đã khám phá ra rằng việc bao gồm các chế phẩm bổ sung mà đóng vai trò là tá dược làm ổn định trong các chế phẩm của HMB và Vitamin D cải thiện độ ổn định của Vitamin D. Các ví dụ đại diện về tá dược làm ổn định bao gồm nhưng không bị giới hạn ở EDTA, hydroxytoluen được butylat hóa (BHT), carnitin, dịch chiết cây hương thảo, axit carnosolic, và/hoặc axit sorbic. Việc bao gồm ít nhất một trong số các chất bổ sung này trong chế phẩm chứa HMB và Vitamin D khiến cho sự mất Vitamin D tối thiểu trong chế phẩm theo thời gian. Sự bổ sung chất bổ sung vào chế phẩm chứa Vitamin D kết hợp với các thành phần có tính axit (như HMBFA), làm ổn định Vitamin D chống lại sự phân hủy theo thời gian.

Vitamin D được dự tính bao gồm các vitamin D₂, D₃, và D₄ và các chất tương tự có liên quan.

Các tá dược làm ổn định mà được bao hàm bởi sáng chế bao gồm EDTA hoặc các chất oxy hóa bao gồm BHT, BHA, ascorbyl palmitat, propyl gallat, vitamin E, axit ascorbic, xystein, methionin, monothioglycerol, natri thiosulphat, hoặc các sulfat.

Vitamin D đã được phát hiện là phân hủy đáng kể theo thời gian khi Vitamin D được bao gồm trong các chế phẩm có tính axit. Vì mong muốn kết hợp Vitamin D với HMBFA trong chế phẩm có tính axit, có độ pH thấp, tồn tại nhu cầu đối với chế phẩm của HMB và Vitamin D. Bất ngờ khám phá ra rằng việc bao gồm tá dược làm ổn định, như EDTA, BHT, carnitin, dịch chiết cây hương thảo, axit carnosolic, và/hoặc axit sorbic khiến cho chế phẩm trong đó Vitamin D được làm ổn định chống lại sự phân hủy theo thời gian.

Trong hầu hết các trường hợp, HMB được sử dụng trong các nghiên cứu lâm sàng và được bán trên thị trường dưới dạng chất hỗ trợ tăng hiệu suất lao động ở dạng muối canxi. Các tiến bộ gần đây đã cho phép sản xuất HMB ở dạng axit tự do để sử dụng cho người và động vật, và tốt hơn là dưới dạng chất bổ sung dinh dưỡng hoặc được kết hợp vào các thực phẩm. HMB ở dạng axit tự do (HMBFA) đã được phát triển, mà đã được chứng tỏ là được hấp thụ nhanh hơn CaHMB, làm cho các mức HMB huyết thanh đỉnh nhanh hơn

và cao hơn và sự thanh thải huyết thanh được cải thiện cho các mô. Độ pH của HMBFA là <3.

Do đó, HMB axit tự do có thể là phương pháp sử dụng HMB hiệu quả hơn so với dạng muối canxi, cụ thể là khi được sử dụng trực tiếp trước khi luyện tập cường độ cao. Tuy nhiên, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật sẽ nhận ra rằng sáng chế bao hàm HMB ở dạng bất kỳ.

HMB ở dạng bất kỳ có thể được kết hợp thành dạng phân phối và/hoặc dạng sử dụng để tạo ra khoảng liều dùng điển hình nằm trong khoảng từ khoảng 0,5 gam HMB đến khoảng 30 gam HMB.

Liều thích hợp bất kỳ của HMB có thể được sử dụng trong ngữ cảnh của sáng chế. Các phương pháp tính toán các liều thích hợp là đã biết rõ trong lĩnh vực kỹ thuật.

Khi chế phẩm được sử dụng qua đường miệng ở dạng ăn được, chế phẩm này tốt hơn nếu ở dạng thực phẩm bảo vệ sức khỏe, thực phẩm hoặc môi trường được dụng, tốt hơn nữa là ở dạng thực phẩm bảo vệ sức khỏe hoặc thực phẩm. Thực phẩm bảo vệ sức khỏe hoặc thực phẩm thích hợp bất kỳ bao gồm chế phẩm có thể được sử dụng trong ngữ cảnh của sáng chế. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật sẽ hiểu rằng chế phẩm, bất kể là ở dạng nào (như thực phẩm bảo vệ sức khỏe, thực phẩm hoặc môi trường được dụng), có thể bao gồm các axit amin, vitamin, protein, peptit, carbohydrat, chất béo, đường, chất khoáng và/hoặc các nguyên tố vi lượng.

Để bào chế chế phẩm dưới dạng thực phẩm bảo vệ sức khỏe hoặc thực phẩm, chế phẩm này thường sẽ được kết hợp hoặc được trộn theo cách mà chế phẩm được phân bố về cơ bản đồng đều trong thực phẩm bảo vệ sức khỏe hoặc thực phẩm. Theo cách khác, chế phẩm này có thể được hòa tan trong chất lỏng, như nước.

Chế phẩm thực phẩm bảo vệ sức khỏe có thể ở dạng bột, dạng gel, dạng lỏng hoặc có thể được tạo viên nén hoặc được bao nang, ví dụ ở dạng chế phẩm gel mềm. Các ví dụ sau đây kiểm tra độ ổn định của Vitamin D khi được kết hợp với HMB ở dạng phân phối gel mềm hoặc viên nang. Sáng chế không bị giới hạn ở bất kỳ dạng phân phối cụ thể nào,

và có thể bao gồm các tổ hợp của HMB và Vitamin D ở dạng chế phẩm lỏng, dạng gel và thực phẩm.

Mặc dù môi trường được dụng thích hợp bất kỳ bao gồm chế phẩm có thể được sử dụng trong ngữ cảnh của sáng chế, tốt hơn là, chế phẩm được kết hợp với chất mang được dụng thích hợp, như dextroza hoặc sucroza.

Hơn thế nữa, chế phẩm của môi trường được dụng có thể được sử dụng trong tĩnh mạch theo cách thích hợp bất kỳ. Để sử dụng qua truyền tĩnh mạch, chế phẩm này tốt hơn là ở dạng không độc, hòa tan trong nước. Việc sử dụng trong tĩnh mạch là đặc biệt thích hợp cho bệnh nhân nằm viện mà đang trải qua trị liệu truyền tĩnh mạch (IV). Ví dụ, chế phẩm này có thể được hòa tan trong dung dịch IV (ví dụ, dung dịch muối hoặc glucoza) được sử dụng cho bệnh nhân. Ngoài ra, chế phẩm này cũng có thể được bổ sung vào dung dịch dinh dưỡng IV, mà có thể bao gồm các axit amin, glucoza, peptit, protein và/hoặc lipid. Các lượng chế phẩm để được sử dụng trong tĩnh mạch có thể là tương tự với các mức được sử dụng qua đường uống. Việc truyền trong tĩnh mạch có thể được kiểm soát tốt hơn và chính xác hơn so với sử dụng qua đường uống.

Các phương pháp tính toán tần suất sử dụng chế phẩm là đã biết rõ trong lĩnh vực kỹ thuật và tần suất sử dụng thích hợp bất kỳ có thể được sử dụng trong ngữ cảnh của sáng chế (ví dụ, một liều 6 g mỗi ngày hoặc hai liều 3 g mỗi ngày) và trong khoảng thời gian thích hợp bất kỳ (ví dụ, liều đơn có thể được sử dụng trong khoảng thời gian năm phút hoặc trong khoảng thời gian một giờ, hoặc, theo cách khác, đa liều có thể được sử dụng trong khoảng thời gian kéo dài). Chế phẩm này có thể được sử dụng trong khoảng thời gian kéo dài, như hàng tuần, hàng tháng hoặc hàng năm.

Liều thích hợp bất kỳ của HMB và vitamin D có thể được sử dụng trong ngữ cảnh của sáng chế. Các phương pháp tính toán các liều thích hợp là đã biết rõ trong lĩnh vực kỹ thuật.

Thuật ngữ việc dùng hoặc sử dụng bao gồm việc cung cấp chế phẩm cho động vật có vú, tiêu thụ chế phẩm và các tổ hợp của chúng.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ thử nghiệm

Các ví dụ sau đây sẽ minh họa sáng chế một cách chi tiết hơn. Sẽ dễ dàng hiểu rằng chế phẩm theo sáng chế, như được mô tả chung và được minh họa trong các Ví dụ ở đây, có thể được tổng hợp ở nhiều dạng chế phẩm khác nhau và các dạng liều dùng khác nhau. Do đó, phần mô tả chi tiết sau đây của các phương án được ưu tiên hiện tại về các phương pháp, dạng bào chế và chế phẩm theo sáng chế không nhằm làm giới hạn phạm vi của sáng chế, như được yêu cầu bảo hộ, mà chỉ đơn thuần thể hiện các phương án được ưu tiên hiện tại của sáng chế.

Mục đích của thí nghiệm sau đây là để thử nghiệm độ ổn định của Vitamin D₃ trong HMBFA ở các công thức khác nhau. Sự mất Vitamin D₃ thấp hơn 10% được coi là chấp nhận được.

Phương pháp: Mười một công thức HMBFA/Vitamin D₃ khác nhau được thử nghiệm. Các công thức này được thử nghiệm đối với độ ổn định của Vitamin D₃ theo thời gian. Các công thức là như sau:

1. HMBFA + Vitamin D₃ (100 HP, BASF, Đan Mạch)
2. Vitamin D₃ (100 HP, BASF, Đan Mạch) trong HMB FA cộng Cholin Clorua (Acros Organics)
3. Vitamin D₃ (100 HP, BASF, Đan Mạch) trong HMB FA cộng Betain (Sigma-Aldrich)
4. HMBFA được đệm + Vitamin D₃ (100 HP, BASF, Đan Mạch)
5. HMBFA được đệm + BASF Vitamin D₃ được bảo vệ (100GFP/HP, BASF, Đan Mạch)
6. HMBFA + NovaSol D® Vitamin D₃ được bảo vệ (AquaNova®, Đức)
7. HMB axit tự do được đệm + NovaSol D® Vitamin D₃ được bảo vệ (AquaNova, Đức) được làm ổn định bằng 60 ppm dinatri EDTA (Chất tạo chelat Versene™ NA, Dow Chemical, Midland, MI),

8. HMBFA + NovaSol D ® Vitamin D₃ (AquaNova, Đức) được làm ổn định bằng 60 ppm dinatri EDTA (Chất tạo chelat Versene™ NA, Dow Chemical, Midland, MI)
9. HMBFA được đệm + Vitamin D₃ (Sigma-Aldrich) được làm ổn định bằng 60 ppm dinatri EDTA (Chất tạo chelat Versene™ NA, Dow Chemical, Midland, MI)
10. HMBFA được đệm + NovaSol D® Vitamin D₃ (AquaNova, Đức) + L-carnitin được làm ổn định bằng BHT (hydroxytoluen được butylat hóa, Sigma-Aldrich)
11. HMBFA được đệm + NovaSol D ® Vitamin D₃ (AquaNova, Đức) + L-carnitin được làm ổn định bằng NovaSol Rosemary®, NovaSol DS/4®, và BHT (hydroxytoluen được butylat hóa, Sigma-Aldrich)

Vitamin D₃ được đo bằng HPLC bởi các thử nghiệm Heartland.

Kết quả: Trong số 11 công thức được thử nghiệm, công thức 7 chứa HMBFA được đệm cộng NovaSol D Vitamin D₃ được bảo vệ, được làm ổn định bằng 60 ppm dinatri EDTA (Versene™ NA), công thức 10 chứa HMBFA cộng NovaSol D Vitamin D₃ được bảo vệ, được làm ổn định bằng BHT, và công thức 11 HMBFA được đệm + NovaSol D Vitamin D₃ được làm ổn định bằng NovaSol Rosmary, NovaSol DS/4, và BHT ổn định. Sự thay đổi phần trăm ở Vitamin D₃ được trình bày trong bảng sau đây:

Bảng 1

Công thức số		số ngày	Vit. D ₃ , % thay đổi
1	HMBFA + vitamin D ₃	28	-57%
2	Vitamin D ₃ trong HMBFA cộng Cholin Clorua	14	-28%
3	Vitamin D ₃ trong HMBFA cộng Betain	14	-28%
4	Axit HMBFA được đệm + Vitamin D ₃	28	-61%
5	HMBFA được đệm + BASF Vitamin D ₃ được bảo vệ	35	-35%
6	HMB FA + NovaSol D Vitamin D ₃ được bảo vệ	35	-32%

7	HMB axit tự do được đệm + NovaSol D Vitamin D ₃ được bảo vệ, được làm ổn định bằng 60 ppm dinatri EDTA	56	2%
8	HMBFA + NovaSol D Vitamin D ₃ được bảo vệ, được làm ổn định bằng 60 ppm dinatri EDTA	14	-32%
9	HMBFA + Sigma Vitamin D ₃ được làm ổn định bằng 60 ppm dinatriEDTA	28	-11%
10	HMBFA được đệm + NovaSol D Vitamin D ₃ được bảo vệ + L-carnitin được làm ổn định bằng BHT	56	14,9
11	HMBFA được đệm + NovaSol D Vitamin D ₃ được bảo vệ + L- carnitin được làm ổn định bằng NovaSol Rosmary, NovaSol DS/4, và BHT	56	-7,9

Fig. 1, 2, và 3 minh họa độ ổn định của Vitamin D₃ lần lượt trong các công thức 7, 10, và 11. Tóm lại, các nghiên cứu này chứng tỏ rằng vitamin D₃ ổn định khi được bảo chế với HMBFA được đệm và dinatri EDTA hoặc khi BHT được thay thế cho dinatri EDTA. Vitamin D₃ được bảo vệ như NovaSol D cũng cần thiết.

Điều chế HMB được đệm ở dạng axit tự do (HMBFA)

Ngắn gọn là, 400 g HMBFA (lô TSI 12111036) được cân vào trong cốc một lít và sau đó 37,8 g kali cacbonat (K₂CO₃) được bổ sung vào HMBFA. Thanh khuấy được bổ sung và hỗn hợp được khuấy trong 60 giờ. Độ pH thu được là khoảng 4,5. Theo cách khác, phản ứng có thể được gia tốc bằng cách trộn nước (35 g) với kali cacbonat (37) g và sau đó bổ sung HMBFA (400 g).

Vitamin D₃ trong công thức 7 là từ AquaNova và được mô tả là NovaSOL D. Sản phẩm Vitamin D₃ này được bảo vệ bằng Polysorbat 80. Sản phẩm này là hòa tan trong nước và dầu, thu được dung dịch trong. Để tính toán lượng thành phần cần thiết, sử dụng như sau: để sử dụng mỗi viên nang 250 IU Vitamin D₃ (Tính toán là 1 µg = 40 IU), nghĩa là 6,25 µg dựa trên sản phẩm 0,25% NovaSOL D này cần 2,5mg trên mỗi viên nang NovaSOL D.

EDTA được sử dụng trong công thức 7 và công thức 8 là dinatri EDTA của Dow (Chất tạo chelat Versene™ NA, Dow Chemical, Midland, MI. Trong công thức 10 và 11, dinatri EDTA được thay thế bằng BHT bảo quản. Ngoài ra, công thức 11 cũng chứa dịch chiết cây hương thảo NovaSol chống oxy hóa mà có hàm lượng cao của axit carnosolic và NovaSol DS/4 bảo quản (axit sorbic).

Phần mô tả trên đây và các hình vẽ bao gồm các phương án minh họa của sáng chế. Các phương án trên đây và các phương pháp được mô tả trong bản mô tả có thể thay đổi dựa trên khả năng, kinh nghiệm, và ưu tiên của người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Việc đơn thuần liệt kê các bước của phương pháp theo thứ tự nhất định không tạo ra hạn chế về thứ tự các bước của phương pháp này. Phần mô tả trên đây và các hình vẽ chỉ nhằm giải thích và minh họa sáng chế, và sáng chế không bị giới hạn ở đó, ngoại trừ mức độ mà các yêu cầu bảo hộ bị giới hạn. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này với bản mô tả sẽ có thể tạo ra các cải biến và thay đổi trong đó mà không nằm ngoài phạm vi của sáng chế.

Tài liệu tham khảo

1. Heaney, R. P. Vitamin D in Health and Disease. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol* 3, 1535-1541 (2008).
2. Holick, M. F. *et al.* Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 96, 1911-1930, doi:10.1210/jc.2011-0385 (2011).
3. Eitenmiller, R. R. L. J., W.O.; . in *Vitamin Analysis for the Health of Food Sciences* 77-107 (CRC Press, 1998).
4. Renken, S. A. W., J.J. Vitamin stability in milk. *Food Sci* 58, 552-556 (1993).
5. Indyk, H. E. L., V.; Woollard, d.C. Solubility of vitamin D₃ during spray-drying of milk. *Food Chem* 57, 283-286 (1996).
6. Biancuzzo, R. M. *et al.* Fortification of orange juice with vitamin D(2) or vitamin D(3) is as effective as an oral supplement in maintaining vitamin D status in adults. *Am J Clin Nutr* 91, 1621-1626, doi:10.3945/ajcn.2009.27972 (2010).

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Chế phẩm có tính axit ổn định chứa β -hydroxy- β -methylbutyrat (HMB) ở dạng axit tự do, vitamin D và ít nhất một tá dược làm ổn định, trong đó vitamin D được làm ổn định chống lại sự phân hủy theo thời gian.
2. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó tá dược làm ổn định được chọn từ danh sách bao gồm EDTA, hydroxytoluen được butyl hoá (BHT), carnitin, dịch chiết cây hương thảo, axit carnosolic, và axit sorbic.
3. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó tá dược làm ổn định được chọn từ danh sách bao gồm EDTA và hydroxytoluen được butyl hoá (BHT).
4. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó chế phẩm này được chứa trong dạng phân phối được chọn từ danh sách bao gồm viên nang, gel mềm, chất lỏng, và thực phẩm.
5. Phương pháp làm ổn định vitamin D trong chế phẩm có tính axit, bao gồm bước đưa ít nhất một tá dược làm ổn định vào chế phẩm chứa vitamin D và β -hydroxy- β -methylbutyrat (HMB) để làm ổn định vitamin D chống lại sự phân hủy theo thời gian.
6. Phương pháp theo điểm 5, trong đó HMB là ở dạng axit tự do.
7. Phương pháp theo điểm 5, trong đó tá dược làm ổn định được chọn từ danh sách bao gồm EDTA, hydroxytoluen được butyl hoá (BHT), carnitin, dịch chiết cây hương thảo, axit carnosolic, và axit sorbic.
8. Phương pháp giảm thiểu sự phân hủy vitamin D trong chế phẩm có tính axit chứa β -hydroxy- β -methylbutyrat (HMB) và vitamin D bao gồm bước đưa ít nhất một tá dược làm ổn định vào chế phẩm này, trong đó tá dược làm ổn định này bảo vệ vitamin D tránh sự phân hủy.
9. Phương pháp theo điểm 8, trong đó HMB là ở dạng axit tự do.
10. Phương pháp theo điểm 8, trong đó tá dược làm ổn định được chọn từ danh sách bao gồm EDTA, hydroxytoluen được butyl hoá (BHT), carnitin, dịch chiết cây hương thảo, axit carnosolic, và axit sorbic.

11. Phương pháp theo điểm 9, trong đó chế phẩm này được chứa trong dạng phân phối được chọn từ danh sách bao gồm viên nang và gel mềm.
12. Phương pháp theo điểm 8, trong đó vitamin D phân hủy với lượng ít hơn khoảng 10%.
13. Phương pháp theo điểm 12, trong đó sự phân hủy vitamin D ít hơn khoảng 10% vào lúc 30 ngày.

1/2

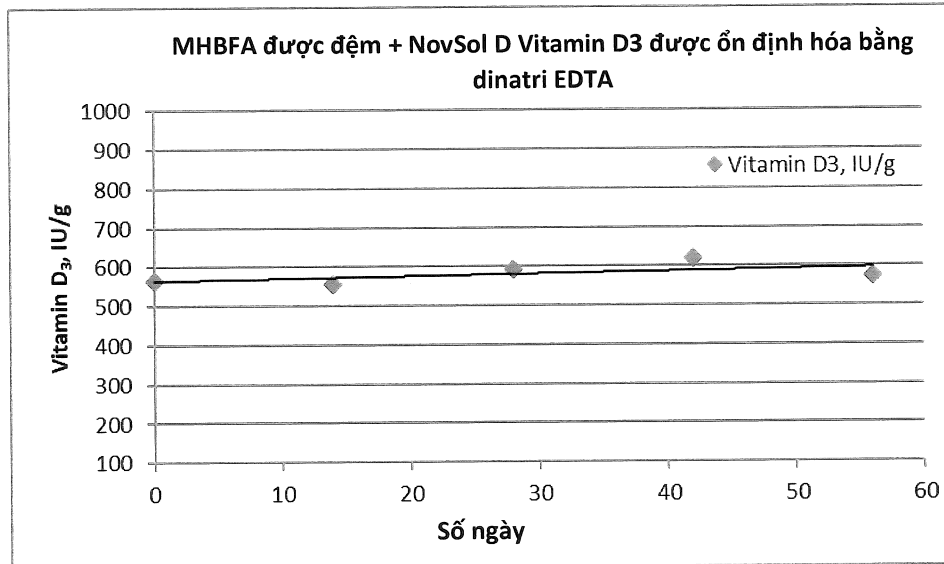


Fig. 1. Độ ổn định của Vitamin D₃ trong công thức 7 chứa HMB axit tự do được đệm + NovaSol D® Vitamin D₃ được bảo vệ (AquaNova, Đức) được ổn định hóa bằng 60 ppm dinatri EDTA (Chất tạo chelat Versene™ NA, Dow Chemical, Midland, MI)

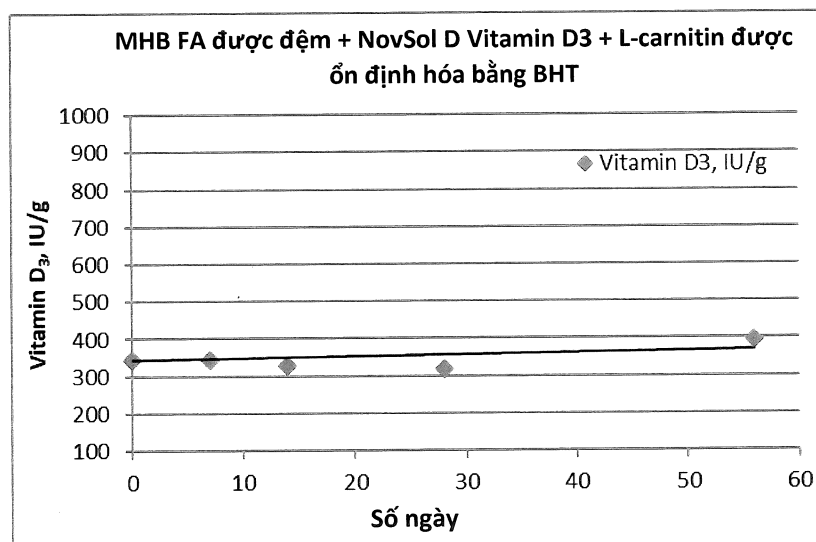


Fig. 2. Độ ổn định của Vitamin D₃ trong Công thức 10 chứa HMBFA được đệm + NovaSol D® Vitamin D₃ (AquaNova, Germany) + L-carnitin được ổn định hóa bằng BHT (Hydroxytoluen được butylat hóa, Sigma-Aldrich).

2/2

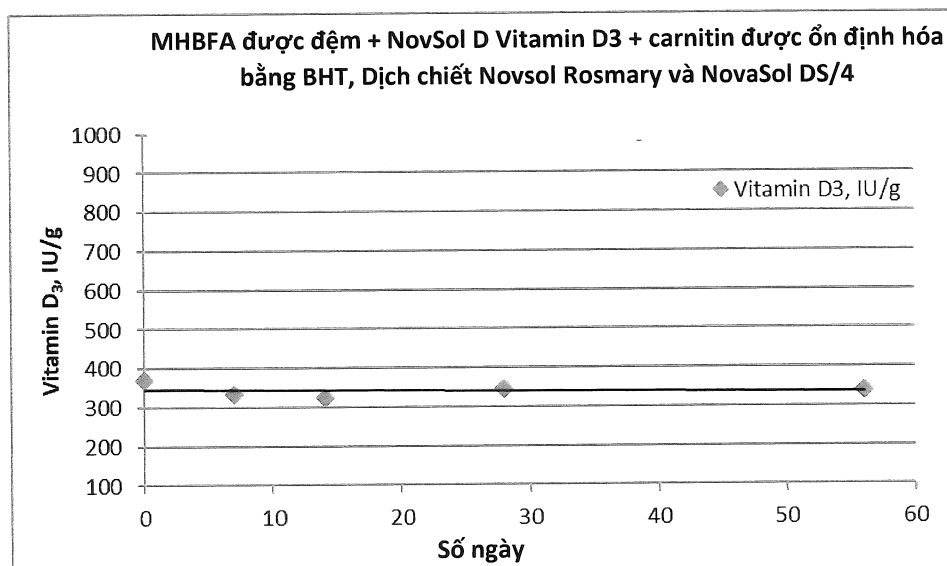


Fig. 3. Độ ổn định của Vitamin D₃ trong công thức 11 chứa HMBFA được đệm + NovaSol D Vitamin D₃ được bảo vệ + L-carnitin được ổn định hóa bằng NovaSol Rosmary, NovaSol DS/4, và BHT