

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 412 274**

51 Int. Cl.:

C07H 17/02	(2006.01) A61P 25/08	(2006.01)
A61K 31/706	(2006.01) A61K 31/66	(2006.01)
A61P 1/02	(2006.01) C07F 9/02	(2006.01)
A61P 1/04	(2006.01) A61K 8/67	(2006.01)
A61P 3/02	(2006.01) A61Q 19/08	(2006.01)
A61P 5/16	(2006.01) A61Q 19/02	(2006.01)
A61P 7/06	(2006.01) A23K 1/16	(2006.01)
A61P 17/00	(2006.01)	
A61P 17/04	(2006.01)	
A61P 21/02	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.09.2004 E 10186338 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.03.2013 EP 2311847**

54 Título: **Composición que contiene un derivado de vitamina B6 estable**

30 Prioridad:

01.10.2003 JP 2003342918
26.05.2004 JP 2004155624

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

10.07.2013

73 Titular/es:

DAIICHI FINE CHEMICAL CO., LTD. (100.0%)
530, Chokeiji
Takaoka-shi Toyama 933-8511, JP

72 Inventor/es:

SAKAMOTO, KEIJI;
WADA, KOICHI;
ITO, HAJIME;
TAKE, NOBUHIRO;
MORIMOTO, HIROSHI;
MANIWA, FUMIO y
SHIMMOTO, YUKIKO

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 412 274 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Composición que contiene un derivado de vitamina B6 estable

Campo técnico

La presente invención se refiere a un derivado de vitamina B6 estable.

5 Antecedentes de la técnica

10 Cada uno de piridoxina, piridoxal y piridoxamina es una sustancia que tiene acción de vitamina B6, y se denominan una clase de vitamina B6 junto con cada 5'-fosfato de las mismas, es decir, 5'-fosfato de piridoxina, 5'-fosfato de piridoxal y 5'-fosfato de piridoxamina. Estos compuestos se metabolizan para dar 5'-fosfato de piridoxal *in vivo*, y desempeñan un papel importante como coenzima para enzimas que participan en el metabolismo de los aminoácidos.

Se sabe que la piridoxina y el clorhidrato de la misma son extremadamente inestables frente a la luz, y de manera similar, el piridoxal, la piridoxamina y el 5'-fosfato de piridoxal también son muy inestables frente a la luz. Por este motivo, se desea proporcionar un compuesto de la clase de la vitamina B6 que tenga estabilidad frente a la luz mejorada.

15 Se han notificado varios glicósidos de vitamina B6 en los que la vitamina B6 está glicosilada. Por ejemplo, el 5'-β-D-glucósido de piridoxina existe en cuerpos de plantas. Sin embargo, no se ha notificado la estabilidad frente a la luz de los mismos. Los glicósidos de vitamina B6 glicosilados en la posición 4' o 5' (4'-α-D-glucósido de piridoxina, 5'-α-D-glucósido de piridoxina) se sintetizaron enzimáticamente (por ejemplo, J. Vitaminol., 15, págs. 160-166, 1969; y Methods in Enzymology, 280, págs. 66-71, 1997). En cuanto a la estabilidad del 4'-α-D-glucósido de piridoxina y 5'-α-D-glucósido de piridoxina, se ha notificado que estas sustancias tienen estabilidad a largo plazo superior a 50°C en preparaciones farmacéuticas en comparación con clorhidrato de piridoxina (por ejemplo, publicaciones no examinadas de patente japonesa (KOKAI) n.ºs 2002-265316 y 2002-265368). En cuanto a la estabilidad frente a la luz, se ha notificado que la estabilidad frente a la luz de una mezcla de 4'-α-D-glucósido de piridoxina y 5'-α-D-glucósido de piridoxina mejora en comparación con clorhidrato de piridoxina en una prueba de irradiación con lámpara ultravioleta (por ejemplo, J. Vitaminol., 17, págs. 121-124, 1971). Sin embargo, la estabilidad notificada no es suficiente para aplicaciones prácticas. No se ha notificado ningún compuesto hasta la fecha en el que la vitamina B6 esté glicosilada en la posición 3 y esterificada en éster de ácido fosfórico.

20 Se sabe que la estabilidad frente a la luz de la vitamina B6 mejora mediante la adición de ácido bórico (Vitamins, 22, págs. 138-141, 1961) o la adición de un alcohol de azúcar (publicación no examinada de patente japonesa (KOKAI) n.º 07-20664). Sin embargo, el efecto no es satisfactorio, y además, surge el problema de que el uso está limitado por la adición de ácido bórico o un alcohol de azúcar.

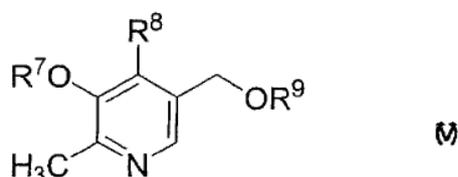
25 Se sabe que cuando se mezcla la vitamina B6 con otras clases de vitaminas, a veces puede acelerarse la descomposición de las otras vitaminas. Por ejemplo, se ha notificado que cuando se mezclan pantotenato de calcio y vitamina B6 y se almacenan a 40°C con RH del 75%, se acelera la descomposición del pantotenato de calcio (Katei-yaku Kenkyu (Home Remedy Research), 54(5), págs. 54-58, 1986). Se sabe que en una disolución acuosa a la que se añade ácido bórico, pueden existir de manera estable tanto vitamina B6 como ácido pantoténico (publicación no examinada de patente japonesa (KOKAI) n.º 05-17355). Sin embargo, el efecto no es satisfactorio, y surge el problema de que el uso está limitado por la adición de ácido bórico.

30 La vitamina B6 es una vitamina que desempeña un papel importante en el metabolismo de las proteínas *in vivo*, y también actúa como coenzima en el metabolismo de las grasas. La escasez de vitamina produce inflamación de la piel, hinchazón, esprue y similares (Fragrance Journal, 17 (3), 96-110 (1986); publicación no examinada de patente japonesa (KOKAI) n.º 2002-265368). Como preparaciones externas dérmicas, se han usado convencionalmente preparaciones externas a las que se les ha añadido un derivado de vitamina B6 tal como clorhidrato de piridoxina para el alivio de aspereza de la piel, granos, bronceado y sofocos debidos a quemaduras en la nieve, tratamientos terapéuticos y profilácticos del picor debido a inflamación, caspa debida a seborrea seca y similares. Sin embargo, los derivados de vitamina B6 usados convencionalmente tienen los problemas de que presentan escasa estabilidad frente a la luz, y los productos de descomposición de los mismos producen irritación de la piel y similares. También presentan el problema de que no pueden obtenerse los efectos suficientes como con la vitamina B6 cuando se añaden y se usan en preparaciones externas para la piel.

50 Descripción de la invención

La inestabilidad de la vitamina B6 y los derivados de la misma, especialmente la inestabilidad frente a la luz, es un obstáculo para el uso práctico de estas sustancias. Si puede proporcionarse un derivado de vitamina B6 que es estable frente a la luz, el derivado ampliará satisfactoriamente las utilidades del mismo. Por tanto, un objeto de la presente invención es proporcionar un derivado de vitamina B6 estable. En particular, el objeto de la presente invención es proporcionar un derivado de vitamina B6 que tiene estabilidad frente a la luz mejorada.

Los inventores de la presente invención realizaron diversas investigaciones para lograr el objeto mencionado anteriormente. Como resultado, encontraron que un derivado de vitamina B6 que tiene una estructura particular en la que la vitamina B6 se glicosiló o se convirtió en un éster de ácido fosfórico o ácido sulfúrico (a continuación en el presente documento también denominado un "derivado de vitamina B6") en la posición 3 tenía estabilidad superior, y especialmente la estabilidad del mismo frente a la luz mejoraba notablemente. Los inventores de la presente invención realizaron investigaciones adicionalmente, y encontraron un compuesto novedoso útil como producto intermedio para la fabricación del derivado de vitamina B6 mencionado anteriormente, y un método eficaz para producir el derivado de vitamina B6 mencionado anteriormente usando el producto intermedio mencionado anteriormente. Los inventores de la presente invención también encontraron que el derivado de vitamina B6 mencionado anteriormente se mantenía de manera estable en una composición tal como medicamentos, productos alimenticios, piensos, cosméticos y similares para presentar efectos superiores, y el derivado no proporcionaba ninguna influencia sobre la estabilidad de otras vitaminas en la composición. Encontraron además que el derivado de vitamina B6 mencionado anteriormente tenía efectos ventajosos notables, en particular, efecto de blanqueamiento, efecto antienvjecimiento, efecto de supresión de arrugas y similares. La presente invención se logró basándose en los hallazgos mencionados anteriormente. La presente invención proporciona una composición para cosméticos, medicamentos, productos alimenticios y/o piensos que comprende un compuesto representado por la siguiente fórmula general (V) o una sal del mismo



en la que R⁷ representa un grupo glicosilo, un grupo fosfato, un grupo sulfato o un grupo fosfato cíclico unido a R⁸; R⁸ representa -CH₂OH, -CHO, CH₂NH₂, -CH₂-residuo de aminoácido o -CH₂-OPO₂H; y R⁹ representa átomo de hidrógeno o -PO₃H₂.

La presente invención también proporciona un método para estabilizar una vitamina en una composición para cosméticos, medicamentos, productos alimenticios y/o piensos añadiendo el compuesto representado por la fórmula general (V) o una sal del mismo a la composición, y una composición para cosméticos, medicamentos, productos alimenticios, y/o piensos que contiene el compuesto representado por la fórmula general (V) o una sal del mismo y al menos un tipo de vitamina, en la que mejora la estabilidad de la vitamina.

Además de las invenciones mencionadas anteriormente, la presente invención proporciona además la composición para cosméticos mencionada anteriormente, que es un agente de blanqueamiento, un agente antienvjecimiento y/o un agente para suprimir la formación de arrugas por la exposición a luz ultravioleta; una composición para cosméticos que comprende (A) el compuesto representado por la fórmula general (V), y (B) uno o más tipos de sustancias seleccionadas del grupo que consiste en un agente de blanqueamiento, un antioxidante, un agente antiinflamatorio, un acelerador de la circulación sanguínea, un agente de activación celular, y un absorbente de ultravioleta, que se usa como agente de blanqueamiento, un agente antienvjecimiento y/o un agente para suprimir la formación de arrugas por la exposición a luz ultravioleta; y un agente de blanqueamiento que contiene (A) el compuesto representado por la fórmula general (V), y (B) arbutina.

Breve explicación de los dibujos

La figura 1 muestra la estabilidad frente a la luz del compuesto de la presente invención. PN-3-β-G representa 3-β-D-glucósido de piridoxina y PN·HCl representa clorhidrato de piridoxina.

La figura 2 muestra la estabilidad térmica del compuesto de la presente invención. PN-3-β-G representa 3-β-D-glucósido de piridoxina y PN·HCl representa clorhidrato de piridoxina.

La figura 3 muestra la estabilidad frente a la luz de los compuestos de la presente invención. PN-3-β-G·HCl representa clorhidrato de 3-β-D-glucósido de piridoxina, PL-3-β-G representa 3-β-D-glucósido de piridoxal, PM-3-β-G representa 3-β-D-glucósido de piridoxamina, PN-3-β-Gal representa 3-β-D-galactósido de piridoxina y PN·HCl representa clorhidrato de piridoxina.

La figura 4 muestra la estabilidad térmica de los compuestos de la presente invención. PN-3-β-G·HCl representa clorhidrato de 3-β-D-glucósido de piridoxina, PL-3-β-G representa 3-β-D-glucósido de piridoxal, PM-3-β-G representa 3-β-D-glucósido de piridoxamina, PN-3-β-Gal representa 3-β-D-galactósido de piridoxina, PN·HCl representa clorhidrato de piridoxina, PI·HCl representa clorhidrato de piridoxal y PM·2HCl·H₂O representa clorhidrato de piridoxamina.

La figura 5 muestra la estabilidad frente a la luz del compuesto de la presente invención. Ser-PN-3-β-G representa 3-

β -D-glucósido de N-(4-piridoxilmetil)-L-serina y PN·HCl representa clorhidrato de piridoxina.

La figura 6 muestra la estabilidad frente a la luz de los compuestos de la presente invención. PN-3,4'-cP representa 3,4'-fosfato cíclico de sodio de piridoxina, PN-3-P representa 3-fosfato de disodio de piridoxina y PN·HCl representa clorhidrato de piridoxina.

- 5 La figura 7 muestra la estabilidad frente a la luz del compuesto de la presente invención. PN-3,4'-cP·Mg representa 3,4'-fosfato cíclico de magnesio de piridoxina y PN·HCl representa clorhidrato de piridoxina.

La figura 8 muestra la estabilidad frente a la luz del compuesto de la presente invención. PN-3- α -G representa 3- α -D-glucósido de piridoxina y PN·HCl representa clorhidrato de piridoxina.

- 10 La figura 9 muestra la estabilidad frente a la luz del compuesto de la presente invención. PN-3-S representa 3-sulfato de sodio de piridoxina y PN·HCl representa clorhidrato de piridoxina.

La figura 10 muestra la estabilidad térmica de los compuestos de la presente invención. PN-3- β -G representa 3- β -D-glucósido de piridoxina, PN-3,4'-cP representa 3,4'-fosfato cíclico de sodio de piridoxina y PN·HCl representa clorhidrato de piridoxina.

- 15 La figura 11 muestra la estabilidad frente a la luz de los compuestos de la presente invención en una loción. PN·HCl representa clorhidrato de piridoxina, PN-3- β -G representa 3- β -D-glucósido de piridoxina, PN-3- β -G·HCl representa clorhidrato de 3- β -D-glucósido de piridoxina, PN-3,4'-cP representa 3,4'-fosfato cíclico de sodio de piridoxina y PN-3-S representa 3-sulfato de sodio de piridoxina.

- 20 La figura 12 representa la estabilidad térmica de los compuestos de la presente invención en una loción. PN·HCl representa clorhidrato de piridoxina, PN-3- β -G representa 3- β -D-glucósido de piridoxina, PN-3- β -G·HCl representa clorhidrato de 3- β -D-glucósido de piridoxina y PN-3,4'-cP representa 3,4'-fosfato cíclico de sodio de piridoxina.

La figura 13 muestra la estabilidad frente a la luz de los compuestos de la presente invención en un champú. PN·HCl representa clorhidrato de piridoxina, PN-3- β -G representa 3- β -D-glucósido de piridoxina, PN-3- β -G·HCl representa clorhidrato de 3- β -D-glucósido de piridoxina y PN-3,4'-cP representa 3,4'-fosfato cíclico de sodio de piridoxina.

- 25 La figura 14 muestra la estabilidad térmica de los compuestos de la presente invención en un champú. PN·HCl representa clorhidrato de piridoxina, PN-3- β -G representa 3- β -D-glucósido de piridoxina, PN-3- β -G·HCl representa clorhidrato de 3- β -D-glucósido de piridoxina y PN-3,4'-cP representa 3,4'-fosfato cíclico de sodio de piridoxina.

- 30 La figura 15 muestra la estabilidad frente a la luz de los compuestos de la presente invención en una loción ocular. PN·HCl representa clorhidrato de piridoxina, PN-3- β -G representa 3- β -D-glucósido de piridoxina, PN-3- β -G·HCl representa clorhidrato de 3- β -D-glucósido de piridoxina y PN-3,4'-cP representa 3,4'-fosfato cíclico de sodio de piridoxina.

La figura 16 muestra la estabilidad frente a la luz de los compuestos de la presente invención en un agua para bebida. PN·HCl representa clorhidrato de piridoxina, PN-3- β -G representa 3- β -D-glucósido de piridoxina, PN-3- β -G·HCl representa clorhidrato de 3- β -D-glucósido de piridoxina y PN-3,4'-cP representa 3,4'-fosfato cíclico de sodio de piridoxina.

- 35 La figura 17 muestra la estabilidad frente a la luz de los compuestos de la presente invención en un alimento para perros. PN·HCl representa clorhidrato de piridoxina, PN-3- β -G representa 3- β -D-glucósido de piridoxina, PN-3- β -G·HCl representa clorhidrato de 3- β -D-glucósido de piridoxina y PN-3,4'-cP representa 3,4'-fosfato cíclico de sodio de piridoxina.

- 40 La figura 18 muestra la estabilidad de pantotenato de calcio mezclado con los compuestos de la presente invención. En el dibujo, PN·HCl representa la cantidad restante de pantotenato de calcio mezclado con clorhidrato de piridoxina, PN-3- β -G representa la cantidad restante de pantotenato de calcio mezclado con 3- β -D-glucósido de piridoxina y PN-3,4'-cP representa la cantidad restante de pantotenato de calcio mezclado con 3,4'-fosfato cíclico de sodio de piridoxina.

- 45 La figura 19 muestra la estabilidad de pantotenato de calcio mezclado con los compuestos de la presente invención en una disolución acuosa. En el dibujo, PN·HCl representa la cantidad restante de pantotenato de calcio mezclado con clorhidrato de piridoxina, PN-3- β -G representa la cantidad restante de pantotenato de calcio mezclado con 3- β -D-glucósido de piridoxina y PN-3,4'-cP representa la cantidad restante de pantotenato de calcio mezclado con 3,4'-fosfato cíclico de sodio de piridoxina.

- 50 La figura 20 muestra el efecto sinérgico de blanqueamiento de una composición que comprende el compuesto de la presente invención y arbutina. PN-3- β -G representa 3- β -D-glucósido de piridoxina.

La figura 21 muestra la evaluación graduada basada en el aspecto de fotoenvejecimiento de la piel (tras diez

semanas) usando el compuesto de la presente invención. PN-3-β-G-HCl representa clorhidrato de 3-β-D-glucósido de piridoxina y DETAPAC representa una disolución de dietilentriaminopentaacetato de pentasodio.

Mejor modo para llevar a cabo la invención

5 R¹ representa un grupo glicosilo, un grupo fosfato o un grupo fosfato cíclico unido a R². En la memoria descriptiva, el término "grupo glicosilo" significa un residuo obtenido eliminando el grupo hidroxilo de la posición 1 de un compuesto de sacárido (posición 2 para fructosa). El tipo de anómero de la unión éter entre el grupo glicosilo representado por R¹ y el anillo de piridina puede ser o bien de tipo α o bien β, o bien una mezcla de los mismos. El tipo del compuesto de sacárido que constituye el grupo glicosilo no está limitado particularmente, y puede ser, por ejemplo, un monosacárido, o cualquiera de los oligosacáridos incluyendo disacáridos, trisacáridos, tetrasacáridos y oligosacáridos mayores. La estereoquímica del compuesto de sacárido puede ser cualquiera de D-, L-, o una mezcla de las mismas. Los ejemplos del compuesto de sacárido que constituye el grupo glicosilo incluyen, por ejemplo, D-glucosa, L-glucosa, D-galactosa, L-galactosa, D-manosa, L-manosa, D-fructosa, L-fructosa, D-ribosa, L-ribosa, D-xilosa, L-xilosa, D-arabinosa, L-arabinosa, D-talosa, L-talosa, D-lixosa, L-lixosa, D-alosa, L-alosa, D-altrosa, L-altrosa, D-gulosa, L-gulosa, D-idosa, L-idosa, D-quinovosa, L-quinovosa, D-ramnosa, L-ramnosa, D-fucosa, L-fucosa, maltosa, celobiosa, lactosa, maltotriosa y similares. Entre ellos, se prefieren D-glucosa y D-galactosa.

10 El grupo fosfato representado por R¹ puede ser cualquiera de ésteres lineales tales como monofosfato, pirofosfato y tripolfosfato, ésteres cíclicos formados con monofosfato, pirofosfato, tripolfosfato, o similar de R², o una mezcla de ambos.

20 R² representa -CH₂OH, -CHO, -CH₂NH₂, -CH₂-residuo de aminoácido o -CH₂-OPO₂H. El -CH₂-residuo de aminoácido representado por R² significa un grupo que consiste en un aminoácido cuyo extremo amino-terminal se une a -CH₂-. Cuando existe un átomo de carbono asimétrico de un aminoácido, el compuesto puede ser o bien una sustancia ópticamente activa o bien un racemato. Los ejemplos del compuesto de aminoácido que constituye el grupo de aminoácido incluyen, por ejemplo, aminoácidos ácidos tales como ácido glutámico, ácido aspártico, ácido cisteico y ácido homocisteico, aminoácidos neutros tales como glicina, alanina, valina, leucina, isoleucina, fenilalanina, triptófano, treonina, serina, homoserina, tirosina, cisteína, metionina, asparagina y glutamina, y aminoácidos básicos tales como lisina, ornitina, arginina e histidina. Entre ellos, se prefiere L-serina.

25 Los grupos protectores en R⁴, R⁵ y R⁶ pueden elegirse adecuadamente por los expertos en la técnica. Por ejemplo, se describen grupos protectores adecuados para grupo hidroxilo, grupo amino, grupo aldehído y similares, y métodos de introducción o eliminación para estos grupos en, por ejemplo, Theodora W. Green ed., "Protective Groups in Organic Syntheses", John Wiley & Sons, Inc., 1999; "Handbook of Reagents for Organic Synthesis", cuatro volúmenes en total, John Wiley & Sons, Inc., 1999) y similares. Por tanto, los expertos en la técnica pueden elegir fácilmente un grupo protector adecuado, y realizar la introducción y eliminación del grupo protector.

30 La composición de la presente invención es una composición que contiene el derivado de vitamina B6 representado por la fórmula general (V) o una sal del mismo. La composición de la presente invención se caracteriza porque el derivado de vitamina B6 tiene estabilidad superior, y también otros componentes en la composición, especialmente otras vitaminas, tienen estabilidad mejorada, y se reduce la disminución del contenido del derivado de vitamina B6 mencionado anteriormente y los otros componentes tras el almacenamiento durante un periodo de tiempo prolongado.

40 Los fines de uso de la composición de la presente invención no están limitados particularmente. Por ejemplo, se prefieren usos como composiciones farmacéuticas, composiciones alimenticias tales como alimentos procesados, composiciones de pienso tales como pienso para animales, y composiciones para cosméticos. Las composiciones farmacéuticas incluyen composiciones farmacéuticas usadas para tratamiento profiláctico, diagnóstico y tratamiento terapéutico de enfermedades de seres humanos así como los denominados productos parafarmacéuticos, preparaciones multivitamínicas, composiciones farmacéuticas usadas para enfermedades de mamíferos distintos a los seres humanos y similares. Los ejemplos de las composiciones farmacéuticas incluyen, por ejemplo, polvos, gránulos, granulados, comprimidos (por ejemplo, comprimidos no recubiertos, comprimidos recubiertos con película, comprimidos recubiertos con azúcar en capa fina, comprimidos recubiertos con azúcar, comprimidos masticables, comprimidos bicapa y similares), cápsulas, inhaladores de polvo, disoluciones, inyecciones del tipo de disolución antes del uso proporcionadas en forma de polvo seco y similares. Los alimentos procesados incluyen alimentos secos, alimentos bebibles tales como bebidas de complementos nutricionales y aditivos alimentarios así como alimentos saludables tales como nutrientes complementarios y alimentos para usos saludables especificados. Los ejemplos de las composiciones para cosméticos incluyen, por ejemplo, polvos, bases de maquillaje, lociones, champús y similares. Sin embargo, estas composiciones se mencionan como meros ejemplos, y las composiciones no se limitan a estos ejemplos.

55 En la composición de la presente invención, el contenido del derivado de vitamina B6 mencionado anteriormente no está limitado particularmente. El contenido puede ser, por ejemplo, del 0,001% en peso o más, preferiblemente del 0,005% en peso o más, basado en el peso total de la composición.

La composición de la presente invención puede formarse en una conformación arbitraria mediante medios

adecuados tales como granulación. Los productos formados obtenidos tal como se describió anteriormente, tales como los que están en forma de gránulos, pueden mezclarse adicionalmente con uno o más tipos de componentes para preparar otra composición. Los componentes usados para tal fin pueden elegirse adecuadamente por los expertos en la técnica dependiendo del fin de uso de la composición de la presente invención, y los tipos de los mismos no están limitados particularmente. Por ejemplo, para composiciones farmacéuticas, pueden usarse aditivos farmacéuticos usados habitualmente (por ejemplo, aditivos para medicamentos y similares), para composiciones alimenticias tales como alimentos procesados, pueden usarse aditivos alimentarios, y para composiciones para cosméticos, pueden usarse aditivos para cosméticos.

Los ejemplos de los componentes distintos al derivado de vitamina B6 en la composición de la presente invención incluyen, por ejemplo, sustancias fisiológicamente activas tales como aminoácidos, lípidos, sacáridos, hormonas, enzimas y ácidos nucleicos, carne de pechuga de pollo, harina de trigo, salvado de arroz y similares. Los ejemplos de aglutinantes incluyen, por ejemplo, hidroxipropilcelulosa, hidroximetilcelulosa, hidroximetilpropilcelulosa, polivinilpirrolidona, poli(alcohol vinílico), dextrina, pululano, almidón pregelatinizado, almidón gelatinizado, goma arábica, gelatina, acetato-ftalato de celulosa, ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa, etilcelulosa, L-arabinosa, D-xilosa, D-2-desoxirribosa, D-ribosa, D- y L-galactosa, D-glucosa, D-manosa, D-fructosa, L-sorbosa, L-fucosa, L-ramnosa, D-glucosamina, D-sorbitol, D-manitol, galactitol, eritritol, celobiosa, gentibiosa, isomaltosa, kojibiosa, lactosa, lactitol, laminaribiosa, maltosa, melibiosa, nigerosa, soforosa, sacarosa, paratinosa, trehalosa, palatinita, dextrina, ácido esteárico y derivados de los mismos, éster de ácido graso de sacarosa, almidón de maíz, aspartamo, *Stevia*, acesulfamo, sacarina, copolímero de metacrilato de aminoalquilo, copolímero de ácido metacrílico, polímero de carboxivinilo, polivinilacetato, acetato de dietilamina, lactosa, xilitol, maltitol, azúcar reductor en polvo, jarabe de almidón, arabitol, ribitol, glucitol, harina de maíz, harina de trigo, salvado de arroz, harina de semilla de algodón, arginato de sodio, carragenanos, caseína, gluten, curdlano, goma guar y similares.

Además, el componente distinto al derivado de vitamina B6 en la composición de la presente invención puede ser una sal mineral y la composición puede contener, por ejemplo, cloruro de sodio, carbonato de manganeso, sulfato de zinc, sulfato de hierro, hierro hémico, ferritina, fosfato férrico, succinato ferroso, fumarato ferroso, lactato de hierro, pirofosfato férrico, pirofosfato ferroso, sesquióxido de hierro, citrato férrico, citrato de sodio ferroso, citrato de amonio férrico, gluconato ferroso, cloruro férrico, acetato de zinc, gluconato de zinc, óxido de zinc, cloruro de zinc, sulfuro de selenio, gluconato cúprico, sulfato de cobre, cloruro de cobre, sulfato de manganeso, glicerofosfato de manganeso, cloruro de manganeso, hipofosfito de manganeso, gluconato de manganeso, silicato de magnesio, óxido de magnesio, estearato de magnesio, cloruro de magnesio, carbonato de magnesio, sulfato de magnesio, gluconato de magnesio, salicilato de magnesio, hidróxido de magnesio, acetato de magnesio, fosfato de magnesio (II), fosfato de magnesio (III), carbonato de calcio y magnesio, harina de huesos de bovinos, espinas de pescado en polvo, harina de concha de vieiras, harina de concha de ostras, conchas molidas, cáscara de huevo en polvo, calcio de suero lácteo, gluconato de calcio, carbonato de calcio, fosfato de calcio dibásico, sulfato de potasio, yoduro de potasio y similares. Además, los ejemplos de componentes aromáticos incluyen, por ejemplo, aceite de menta piperita, aceite de eucalipto, aceite de canela, aceite de hinojo, aceite de clavo, aceite de naranja, aceite de limón, aceite de rosa, aromas frutales, aroma a plátano, aroma a fresa, aroma a menta verde, aroma a menta piperita, dl-mentol, l-mentol y similares. Los ejemplos de correctivos incluyen ácido cítrico, ácido málico, ácido tartárico, ácido ascórbico, aspartamo, *Stevia*, sacarina, glicirizina dipotásica, taumatina y acesulfamo. Sin embargo, estos componentes se mencionan como meros ejemplos, y los componentes mencionados anteriormente no se limitan a estos ejemplos.

Los compuestos representados por la fórmula general (V) y sales de los mismos son útiles como derivado de vitamina B6 estable, especialmente un derivado de vitamina B6 que es estable frente a la luz, en los campos de los productos farmacéuticos, productos alimenticios, piensos, cosméticos y similares. Por ejemplo, como medicamentos, pueden usarse para el tratamiento profiláctico y/o terapéutico de la deficiencia de vitamina B6, o el tratamiento profiláctico y/o terapéutico de enfermedades tales como glositis, gastritis, dermatosis seborreica de las circunferencias de los ojos, la nariz y la boca y convulsión infantil. También pueden administrarse a pacientes cuando aumenta la demanda de vitamina B6, y la ingesta a partir de las comidas es insuficiente, por ejemplo, a pacientes con enfermedades de consunción, mujeres embarazadas, mujeres en periodo de lactancia y similares, así como en el momento de usar anticonceptivos orales, hiperfunción de la tiroides, irradiación con radiación, alcoholismo crónico y administración de antibióticos y similares, como medicamento complementario. Además, la sustancia es útil para el tratamiento terapéutico de la dependencia de vitamina B6 (anemia dependiente, convulsiones dependientes y similares) y el tratamiento terapéutico de enfermedades en las que se sospecha de la implicación de la carencia o de vitamina B6 o trastorno metabólico por vitamina B6 (por ejemplo, estomatitis angular, queilitis, glositis, eccema agudo y crónico, dermatitis de contacto y similares).

Como productos alimenticios, la sustancia puede usarse, por ejemplo, como componente de refrescos, para enriquecimiento de productos alimenticios orientados a la salud, como componente de nutrientes complementarios (complementos) y similares, y puede usarse en diversos piensos para enriquecimiento de la vitamina B6. Para cosméticos, puede añadirse, por ejemplo, a cosméticos capilares, cosméticos para la piel, cosméticos para el afeitado y similares. Sin embargo, los fines de uso de los compuestos representados por la fórmula general (V) y sales de los mismos no se limitan a estos usos específicos.

La composición para cosméticos de la presente invención, por ejemplo, una composición para cosméticos que comprende (A) un compuesto representado por la fórmula general (V) y (B) uno o más tipos de sustancias

- seleccionadas del grupo que consiste en un agente de blanqueamiento, un antioxidante, un agente antiinflamatorio, un acelerador de la circulación sanguínea, un agente de activación celular y un absorbente de ultravioleta, presenta efectos superiores como agente de blanqueamiento, agente antienvjecimiento y agente para suprimir la formación de arrugas que resulta de la exposición al ultravioleta. El contenido del derivado de vitamina B6 en la composición no está limitado particularmente y el contenido es preferiblemente del 0,00001 al 2,0% en peso, más preferiblemente del 0,001 al 1,0% en peso, basado en el peso total de la composición. Si se elige el contenido dentro del intervalo anterior, el derivado de vitamina B6 puede combinarse de manera estable y puede obtenerse un efecto de blanqueamiento, efecto antienvjecimiento y efecto de supresión de la formación de arrugas que resulta de la exposición al ultravioleta superiores.
- En la fabricación del agente de blanqueamiento, agente antienvjecimiento y agente para suprimir la formación de arrugas que resulta de la exposición al ultravioleta según la presente invención, pueden añadirse componentes usados habitualmente para preparaciones tales como las de cosméticos, productos para farmacéuticos, y aquéllas para aplicación externa, en un grado en el que no se inhiben los efectos ventajosos de la presente invención, si es necesario, y los ejemplos de tales componentes incluyen, por ejemplo, agua (agua purificada, agua de manantial, agua del fondo del mar y similares), aceites, agentes tensioactivos, jabones metálicos, gelatinizadores, partículas finas, alcoholes, polímeros solubles en agua, componentes formadores de película, resinas, compuestos de clatrato, agentes antimicrobianos, perfumes, desodorantes, sales, agentes de ajuste del pH, refrigerantes, extractos de plantas, animales y microorganismos, eliminadores de oxígeno activo, aceleradores de la circulación sanguínea, astringentes, agentes antiseborreicos, humectantes, agentes quelantes, agentes queratolíticos, enzimas, hormonas, otras vitaminas y similares.

Ejemplos

La presente invención se explicará más específicamente con referencia a los siguientes ejemplos. Sin embargo, el alcance de la presente invención no está limitado por los siguientes ejemplos.

Ejemplo 1: Preparación de 3-β-D-glucósido de piridoxina

- a) 3-(2,3,4,6-Tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosil)-α⁴,α⁵-di-O-acetilpiridoxina
- A clorhidrato de α⁴,α⁵-di-O-acetilpiridoxina (4,90 g, 17,2 mmol) se le añadió CHCl₃ (150 ml) y NaHCO₃ acuoso saturado (100 ml) y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 1 hora. Entonces, se lavó la fase orgánica con salmuera saturada y se secó sobre MgSO₄ anhidro y se evaporó el disolvente a presión reducida. Se disolvieron el sólido blanco resultante (4,0 g) y bromuro de 2,3,4,6-tetra-O-acetil-α-D-glucopiranosilo (9,74 g, 23,7 mmol) en CH₂Cl₂ (70 ml) y se le añadió a la disolución carbonato de plata (4,36 g, 15,8 mmol) con protección frente a la luz y se sometió a reflujo bajo una atmósfera de nitrógeno y entonces se agitó durante la noche. Se concentró la mezcla de reacción a presión reducida y entonces se purificó el residuo mediante cromatografía en columna (gel de sílice, 600 g, eluida con un disolvente mixto de n-hexano:acetato de etilo = 1:2) para obtener el compuesto del título (7,17 g, rendimiento: 78%) como un sólido blanco.
- Punto de fusión: 89-93°C.
- Rotación específica [α]_D = -20° (c = 0,2, CHCl₃).
- ¹H-RMN (CDCl₃) δ ppm: 2,03 (3H, s), 2,04 (3H, s), 2,07 (3H, s), 2,08 (3H, s), 2,09(3H, s), 2,14 (3H, s), 2,55 (3H, s), 3,5-3,6 (1H, m), 4,0-4,2 (2H, m), 4,83 (1H, d), 5,1-5,4 (7H, m), 8,38 (1H, s).
- b) 3-β-D-Glucósido de piridoxina
- Se disolvió el compuesto del ejemplo 1, a) (7,10 g, 12,2 mmol) en metanol (40 ml) y agua (20 ml) y se le añadió hidróxido de sodio (3,38 g, 51,8 mmol) con agitación con enfriamiento con hielo. Se disolvió el hidróxido de sodio en la disolución y entonces se agitó la disolución a temperatura ambiente durante 1 hora. Se neutralizó la mezcla de reacción con ácido clorhídrico 1 N y se concentró a presión reducida y entonces se purificó el residuo mediante cromatografía en columna (SP850, 100 ml, eluida con agua hasta metanol acuoso al 20%). Se disolvió el sólido resultante en agua (200 ml) y se le añadió carbono activado (al 50% húmedo, 150 mg) y se agitó la mezcla a 60°C durante 30 minutos. Se separó el carbono activado mediante filtración y entonces se evaporó el agua a presión reducida. Se recrystalizó el residuo en etanol/agua (10:1, 88 ml) para obtener el compuesto del título (3,14 g, rendimiento: 78%) como cristales blancos. Este compuesto no se hidrolizó con α-glucosidasa (Roche, derivada de *Saccharomyces cerevisiae*) y se hidrolizó completamente con β-glucosidasa (Oriental Yeast, derivada de almendras) para liberar piridoxina. Por tanto, se confirmó que el tipo de anómero de este compuesto era de tipo β.
- Punto de fusión: 211-212°C.
- Rotación específica [α]_D = -6,0° (c = 1,0, H₂O).
- ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ ppm: 2,49 (3H, s), 3,0-3,7 (6H, m), 4,3-5,2 (10H, m), 5,59 (1H, d, J = 4,8 Hz), 8,25 (1H, s).

Ejemplo 2: Preparación de 3-β-D-glucósido de piridoxal

a) Monoetilacetal de 3-(2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosil)-piridoxal

Se suspendió clorhidrato de monoetilacetal de piridoxal (11,0 g, 47,5 mmol) en CH₂Cl₂ (100 ml) bajo una atmósfera de nitrógeno y se le añadió trietilamina (6,63 ml, 47,5 mmol) con enfriamiento con hielo y se calentó la mezcla hasta temperatura ambiente y entonces se le añadió bromuro de 2,3,4,6-tetra-O-acetil-α-D-glucopiranosilo (23,4 g, 57,0 mmol). Tras haberse protegido frente a la luz el recipiente de reacción, se le añadió a la mezcla de reacción carbonato de plata (13,1 g, 47,5 mmol) y se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas y entonces se continuó con la agitación a 35°C durante 24 horas. Se filtró la mezcla de reacción y se concentró a presión reducida y entonces se purificó el residuo mediante cromatografía en columna (gel de sílice, 600 g, eluida con un disolvente mixto de n-hexano:acetato de etilo = 1:2) para obtener el compuesto del título (20,8 g, 84%).

¹H-RMN (CDCl₃) δ ppm: 1,2-1,4 (3H, m), 2,0-2,1 (12H, m), 2,45 (1,7H, s), 2,54 (1,3H, s), 3,5-4,3 (5H, m), 4,9-5,6 (6H, m), 6,24 (0,5H, d, J=1,8 Hz), 6,42 (0,5H, d, J=1,7 Hz), 8,16 (0,5H, s), 8,30 (0,5H, s).

b) 3-(2,3,4,6-Tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosil)-piridoxal

Al compuesto del ejemplo 2, a) (20,0 g, 38,1 mmol) se le añadió agua (200 ml) y ácido clorhídrico 1 N (38 ml) y se agitó la mezcla durante 30 minutos a reflujo. Se enfrió la mezcla de reacción hasta temperatura ambiente, entonces se le añadió hidrogenocarbonato de sodio saturado (200 ml) y se extrajo con acetato de etilo (300 ml). Se secó la fase orgánica sobre MgSO₄ anhidro y se concentró a presión reducida y entonces se purificó el residuo mediante cromatografía en columna (gel de sílice, 600 g, eluida con un disolvente mixto de CHCl₃:MeOH (metanol) = 50:1) para obtener el compuesto del título (10,8 g, 57,0%).

¹H-RMN (CDCl₃) δ ppm: 2,0-2,1 (12H, m), 2,45 (1,8H, s), 2,54 (1,2H, s), 3,6-4,3 (4H, m), 4,9-5,5 (6H, m), 6,6-6,7 (1H, m), 8,19 (0,6H, s), 8,29 (0,4H, s).

c) 3-β-D-Glucósido de piridoxal

Se disolvió el compuesto del ejemplo 2, b) (2,0 g, 4,02 mmol) en MeOH (25 ml) y agua (3 ml) y se le añadió hidróxido de potasio (262 mg, 4,02 mmol) disuelto en agua (2 ml) con agitación con enfriamiento con hielo y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 1 hora. Tras confirmarse la desaparición del material de partida mediante CCF, se neutralizó la mezcla de reacción con ácido clorhídrico 1 N y se concentró a presión reducida y entonces se purificó el residuo mediante cromatografía en columna (SP850, 100 ml, eluida con agua hasta MeOH acuoso al 30%).

Se disolvió el sólido resultante en agua (200 ml) y se le añadió carbono activado (al 50% húmedo, 150 mg) y se agitó la mezcla a 60°C durante 30 minutos. Se separó el carbono activado mediante filtración y entonces se liofilizó el filtrado para obtener el compuesto del título (1,16 g, 88%) como un polvo amorfo blanco.

Punto de fusión: de 130 a 140°C.

Rotación específica [α]_D = -38,4° (c = 1,0, H₂O).

¹H-RMN (DMSO-d₆) δ ppm: 2,42 (3H, s), 3,0-3,5 (5H, m), 3,6-3,8 (1H, m), 4,6-5,5 (7H, m), 6,5-6,6 (1H, m), 6,84 (0,4H, d, J=6,6 Hz), 6,98 (0,6H, d, J=7,0 Hz), 8,05 (0,6H, s), 8,20 (0,4H, s).

Ejemplo 3: Preparación de 3-β-D-glucósido de piridoxamina

a) Oxima de 3-(2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosil)-piridoxal

Se suspendió el compuesto del ejemplo 2, b) (6,0 g, 12,1 mmol) en agua (200 ml) y se le añadió acetato de sodio (1,29 g, 15,7 mmol) y cloruro de hidroxilamonio (1,26 g, 18,2 mmol) y se agitó la mezcla durante 30 minutos a reflujo. Se enfrió la mezcla de reacción hasta temperatura ambiente y entonces se extrajo con acetato de etilo (300 ml). Se secó la fase orgánica sobre MgSO₄ anhidro y entonces se evaporó el disolvente a presión reducida. Al residuo se le añadió dietil éter y se recogió el sólido depositado mediante filtración, se lavó con dietil éter y entonces se secó a presión reducida para obtener el compuesto del título (5,49 g, 89%).

¹H-RMN (CDCl₃) δ ppm: 2,03 (3H, s), 2,03 (3H, s), 2,05 (3H, s), 2,19 (3H, s), 2,56 (3H, s), 3,5-3,7 (1H, m), 4,0-4,2 (2H, m), 4,61 (2H, sa), 4,80 (1H, d, J=7,9 Hz), 5,0 (1H, sa), 5,1-5,5 (3H, m), 8,40 (1H, s), 8,57 (1H, s), 10,9 (1H, sa).

b) 3-(2,3,4,6-Tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosil)-piridoxamina

Se disolvió el compuesto del ejemplo 3, a) (2,28 g, 4,41 mmol) en ácido acético (60 ml) y se sometió a hidrogenación catalítica a temperatura ambiente durante 1 hora en presencia de Pd al 5%-C (AD, al 50% húmedo, 1,2 g). Se separó el catalizador mediante filtración y entonces se evaporó el ácido acético a presión reducida. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna (gel de sílice, 50 g, eluida con CHCl₃:MeOH:AcOH (ácido acético)=

10:1:0,01) para obtener el compuesto del título (1,97 g, 90%).

$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) δ ppm: 2,01 (3H, s), 2,05 (6H, s), 2,16 (3H, s), 2,53 (3H, s), 3,5-5,4 (14H, m), 8,32 (1H, s).

c) 3- β -D-Glucósido de piridoxamina

5 Se disolvió el compuesto del ejemplo 3, b) (1,90 g, 3,81 mmol) en metanol (25 ml) y agua (3 ml) y se le añadió hidróxido de potasio (498 mg, 7,62 mmol) disuelto en agua (4 ml) con agitación con enfriamiento con hielo y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 1 hora. Tras confirmarse la desaparición del material de partida, se neutralizó la mezcla de reacción con ácido clorhídrico 6 N y se concentró a presión reducida y se disolvió el residuo en agua (50 ml), se ajustó a pH 10 con hidróxido de sodio 1 N y se purificó mediante cromatografía en columna (SP850, 100 ml, eluida con agua hasta MeOH acuoso al 30%). Se disolvió el sólido resultante en agua (200 ml) y se le añadió carbono activado (al 50% húmedo, 250 mg) y se agitó la mezcla a 60°C durante 30 minutos. Se separó el carbono activado mediante filtración y entonces se liofilizó el filtrado para obtener el compuesto del título (189 mg, 18%) como un polvo amorfo blanco.

Punto de fusión: de 205 a 212°C.

Rotación específica $[\alpha]_D = -6,1^\circ$ (c = 1,0, H_2O).

15 $^1\text{H-RMN}$ (DMSO-d_6) δ ppm: 2,49 (3H, s), 3,0-3,5 (10H, m), 3,6-3,8 (2H, m), 4,02 (1H, d, J=12,0 Hz), 4,3-4,7 (3H, m), 5,0-5,1 (2H, m), 8,15 (1H, s).

Ejemplo 4: Preparación de 3- β -D-galactósido de piridoxina

a) 3-(2,3,4,6-Tetra-O-acetil- β -D-galactopiranosil)- α^4, α^5 -di-O-acetil-piridoxina

20 A clorhidrato de α^4, α^5 -di-O-acetilpiridoxina (7,82 g, 27,0 mmol) se le añadió CHCl_3 (300 ml) y NaHCO_3 acuoso saturado (200 ml) y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 1 hora. Entonces, se lavó la fase orgánica con salmuera saturada y se secó sobre MgSO_4 anhidro y entonces se evaporó el disolvente a presión reducida. Se disolvieron el sólido blanco resultante (11,4 g, 27,0 mmol) y bromuro de 2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-galactopiranosilo en CH_2Cl_2 (60 ml) y se le añadió carbonato de plata (6,70 g, 24,3 mmol) y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 15 horas y a reflujo durante 7 horas bajo una atmósfera de nitrógeno y con protección frente a la luz. Se separaron los sólidos insolubles mediante filtración y entonces se evaporó el disolvente a presión reducida. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna (gel de sílice, 700 g, eluida con un disolvente mixto de hexano:acetato de etilo = 1:3) para obtener el compuesto del título (8,23 g, 58%) como un sólido blanco.

25 $^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) δ ppm: 1,97 (3H, s), 2,02 (3H, s), 2,09 (3H, s), 2,10 (3H, s), 2,15 (3H, s), 2,22 (3H, s), 2,56 (3H, s), 3,7-3,9 (1H, m), 4,0-4,2 (2H, m), 4,79 (1H, d, J=8,1 Hz), 5,0-5,6 (7H, m), 8,39 (1H, s).

30 b) 3- β -D-Galactósido de piridoxina

Se disolvió el compuesto del ejemplo 4, a) (8,20 g, 14,1 mmol) en metanol (80 ml) y entonces se le añadió hidróxido de potasio (5,99 g, 91,8 mmol) disuelto en agua (20 ml) con enfriamiento con hielo y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 30 minutos. Tras confirmarse la desaparición del material de partida, se neutralizó la mezcla de reacción con ácido clorhídrico 6 N y se concentró a presión reducida y entonces se purificó el residuo mediante cromatografía en columna (SP850, 100 ml, eluida con agua hasta MeOH acuoso al 15%). Se disolvió el sólido resultante en agua (400 ml) y se le añadió carbono activado (al 50% húmedo, 500 mg) y se agitó la mezcla a 60°C durante 30 minutos. Se separó el carbono activado mediante filtración y entonces se evaporó el agua a presión reducida. Se recristalizó el residuo en etanol/agua (2:1, 150 ml) para obtener el compuesto del título (3,67 g, 79%) como cristales de tipo aguja incoloros.

40 Punto de fusión: 215°C o mayor.

Rotación específica $[\alpha]_D = +4,5^\circ$ (c = 1,0, H_2O).

$^1\text{H-RMN}$ (DMSO-d_6) δ ppm: 2,49 (3H, s), 3,2-3,7 (6H, m), 4,4-4,9 (9H, m), 5,20 (1H, t), 5,45 (1H, d, J=5,0 Hz), 8,25 (1H, s).

Ejemplo 5: Preparación de 3- β -D-glucósido de N-(4-piridoxilmetileno)-L-serina

45 Se suspendió L-serina (1,06 g, 10,1 mmol) en MeOH (50 ml) y se agitó la suspensión y se le añadió hidróxido de potasio al 50% (1,12 ml, 10 mmol) de modo que se disolviera el hidróxido de potasio en la suspensión. Se le añadió a la mezcla de reacción el compuesto del ejemplo 2, b) (5,0 g, 10,1 mmol), se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos y entonces se sometió a hidrogenación catalítica a temperatura ambiente durante 16 horas en presencia de Pd al 5%-C (AD, al 50% húmedo, 5,0 g). A los cristales depositados se les añadió AcOH (1,2 ml) y agua (10 ml) de modo que se disolvieran los cristales. Se separó el catalizador mediante filtración y entonces se evaporó el disolvente a presión reducida. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna de fase inversa

(Chromatorex ODS-1020T, 250 g, eluida con agua). Se disolvió el sólido resultante en agua (100 ml) y se le añadió carbono activado (al 50% húmedo, 500 mg) y se agitó la mezcla a 60°C durante 30 minutos. Se separó el carbono activado mediante filtración y entonces se concentró el filtrado hasta sequedad. Se recrystalizó el sólido blanco resultante en etanol al 90% (100 ml) para obtener el compuesto del título (2,38 g, 56,9%) como cristales blancos.

5 Punto de fusión: de 165 a 175°C.

Rotación específica $[\alpha]_D = +8,8^\circ$ (c = 1,0, H₂O).

¹H-RMN (DMSO-d₆) δ ppm: 2,49 (3H, s), 3,0-3,7 (14H, m), 4,0-4,2 (2H, m), 4,56 (2H, s), 4,68 (1H, d, J=7,5 Hz), 5,1 (3H, sa), 8,21 (1H, s).

Ejemplo 6: Preparación de 3,4'-fosfato cíclico de sodio de piridoxina

10 a) 3-Fosforil- α^4, α^5 -di-O-acetilpiridoxina

Se disolvió clorhidrato de α^4, α^5 -Di-O-acetilpiridoxina (33,3 g, 131 mmol) en piridina (350 ml) y se le añadió gota a gota una disolución de oxiclóruo de fósforo (61,3 ml, 657 mmol) en piridina (150 ml) a lo largo de 1,5 horas con enfriamiento con agua. Se agitó la mezcla durante 1 hora, entonces se calentó hasta 40°C y se agitó durante 15 horas. Se concentró la mezcla de reacción a presión reducida y al residuo se le añadió acetonitrilo (100 ml) y agua (400 ml) con enfriamiento con hielo. Se agitó la mezcla de reacción durante 1,5 horas, se le añadió amoniaco acuoso al 28%, se ajustó a pH 7,0 y entonces se concentró a presión reducida. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna (gel de sílice, 250 g, eluida con un disolvente mixto de CHCl₃:MeOH = 10:1 → 5:1) para obtener el compuesto del título (25,6 g, 59%).

15 ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ ppm: 1,98 (3H, s), 2,05 (3H, s), 2,49 (3H, s), 5,14 (2H, s), 5,31 (2H, s), 6,9-7,3 (1H, m), 8,22 (1H, s).

b) 3,4'-Ácido piridoxin-fosfórico cíclico

Se disolvió el compuesto del ejemplo 6, a) (25,6 g, 76,8 mmol) en metanol (150 ml) y agua (100 ml) y entonces se le añadió hidróxido de sodio (6,34 g, 154 mmol) disuelto en agua (100 ml) con enfriamiento con hielo y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 1 hora. Tras confirmarse la desaparición del material de partida, se neutralizó la mezcla de reacción con ácido clorhídrico 2 N y se concentró a presión reducida y entonces se purificó el residuo mediante cromatografía en columna (gel de sílice, 250 g, eluida con un disolvente mixto de CHCl₃:MeOH = 5:1 → 4:1 → 2:1). Se disolvió el producto resultante en agua (254 ml) y se ajustó la disolución a pH 3,2 mediante la adición de resina de intercambio iónico (DOWEX 50 WX8, 15 g) y entonces se desaló mediante cromatografía en columna (SP207, 800 ml, eluida con agua). Se concentraron las fracciones objetivo a presión reducida y entonces se disolvió el residuo en agua (300 ml) y se le añadió carbono activado (al 50% húmedo, 1,5 g). Se agitó la mezcla a 50°C durante 30 minutos, se sometió a filtración con membrana y entonces se liofilizó para obtener el compuesto del título (10,4 g, 58%) como un polvo amorfo blanco.

25 ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ ppm: 2,44 (3H, s), 3,89 (2H, sa), 4,50 (2H, s), 5,22 (2H, d, J=11,7 Hz), 8,12 (1H, s).

c) 3,4'-Fosfato cíclico de sodio de piridoxina

35 Se disolvió el compuesto del ejemplo 6, b) (10,4 g, 45 mmol) en agua (80 ml) y se ajustó la disolución a pH 10 mediante la adición de hidróxido de sodio 1 N y se desaló mediante cromatografía en columna (SP207, 800 ml, eluida con agua). Se recogieron las fracciones objetivo, se les añadió carbono activado (al 50% húmedo, 1 g), se agitaron a 50°C durante 30 minutos, se sometieron a filtración con membrana y entonces se evaporaron hasta sequedad a presión reducida. Al residuo se le añadió etanol (40 ml) y dietil éter (300 ml) y se recogieron los cristales depositados mediante filtración y se secaron a presión reducida para obtener el compuesto del título (9,63 g, 85%) como cristales blancos.

40 Punto de fusión: de 190 a 200°C.

¹H-RMN (DMSO-d₆) δ ppm: 2,28 (3H, s), 4,37 (2H, d, J=3,5 Hz), 5,07 (2H, d, J=5,9 Hz), 5,22 (1H, sa), 7,89 (1H, s).

Ejemplo 7: 3,4'-Fosfato cíclico de magnesio de piridoxina

45 Se disolvió el compuesto del ejemplo 6, b) (20,0 g, 86,5 mmol) en agua (500 ml) y se ajustó la disolución a pH 7,5 mediante la adición de óxido de magnesio (1,6 g) y se desaló mediante cromatografía en columna (SP207, 1.000 ml, eluida con agua). Se recogieron las fracciones objetivo, se les añadió carbono activado (al 50% húmedo, 1 g), se agitaron a 50°C durante 30 minutos, se sometieron a filtración con membrana y entonces se evaporaron a presión reducida hasta sequedad. Al residuo se le añadió acetona (40 ml) y se recogieron los cristales depositados mediante filtración y se secaron a presión reducida para obtener el compuesto del título (12,2 g, 58%) como cristales blancos.

50 Punto de fusión: 230°C o mayor.

$^1\text{H-RMN}$ (D_2O) δ ppm: 2,42 (3H, s), 4,60 (2H, s), 4,83 (1H, s), 5,38 (2H, d, $J=12,3$ Hz), 8,02 (1H, s).

Ejemplo 8: Preparación de 3-fosfato de disodio de piridoxina

Se disolvió el compuesto del ejemplo 6, a) (1,0 g, 3,0 mmol) en metanol (10 ml) y entonces se le añadió hidrogenocarbonato de sodio (0,50 g, 6,0 mmol) disuelto en agua (10 ml) con enfriamiento con hielo y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 24 horas. Se neutralizó la mezcla de reacción con ácido clorhídrico 2 N y se concentró a presión reducida y entonces se purificó el residuo mediante cromatografía en columna (gel de sílice, 30 g, eluida con un disolvente mixto de $\text{CHCl}_3:\text{MeOH} = 4:1 \rightarrow 2:1$). Se concentraron las fracciones objetivo a presión reducida y entonces se disolvió el residuo en agua (10 ml) y se purificó mediante cromatografía en columna de fase inversa (Chromatorex ODS-1020T, 30 g, eluida con agua). Se concentraron las fracciones objetivo hasta 30 ml a presión reducida, entonces se les añadió carbono activado (al 50% húmedo, 1 g), se agitaron a 50°C durante 30 minutos, se sometieron a filtración con membrana y entonces se liofilizaron para obtener el compuesto del título (0,299 g, 34%) como un polvo amorfo blanco.

Punto de fusión: de 137 a 140°C .

$^1\text{H-RMN}$ (DMSO-d_6) δ ppm: 2,39 (3H, s), 4,49 (2H, d, $J=6,6$ Hz), 4,61 (2H, d, $J=4,2$ Hz), 5,14 (1H, t), 5,93 (1H, t), 8,17 (1H, s).

Ejemplo 9: Preparación de clorhidrato de 3- β -D-glucósido de piridoxina

Se disolvió el compuesto del ejemplo 1, b) (2,0 g, 6,0 mmol) en agua (150 ml) y se le añadió ácido clorhídrico 1 N (6,0 ml) y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 1 hora. Entonces, se evaporó el agua a presión reducida. Se disolvió el residuo en etanol (130 ml) y agua (10 ml) a reflujo y se enfrió en una nevera (5°C) durante 5 días. Se recogieron los cristales depositados mediante filtración y se secaron a presión reducida para obtener el compuesto del título (1,84 g, rendimiento: 83%) como cristales blancos.

Rotación específica $[\alpha]_D = +1,7^\circ$ ($c = 1,0$, H_2O).

Punto de fusión: de 166 a 170°C .

$^1\text{H-RMN}$ (DMSO-d_6) δ ppm: 2,73 (3H, s), 3,3-3,4 (1H, m), 3,5-3,7 (2H, m), 3,7-3,9 (3H, m), 4,7-5,0 (12H, m), 8,47 (1H, s).

Ejemplo 10: Preparación de 3- α -D-glucósido de piridoxina

a) 3-(3,4,6-Tri-O-acetil- α -D-glucopiranosil)- α^4, α^5 -di-O-acetilpiridoxina

A clorhidrato de α^4, α^5 -di-O-acetilpiridoxina (0,67 g, 2,34 mmol) se le añadió CHCl_3 (10 ml) y NaHCO_3 acuoso saturado (10 ml) y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 1 hora. Entonces, se lavó la fase orgánica con salmuera saturada, se secó sobre MgSO_4 anhidro y entonces se evaporó el disolvente a presión reducida. Se disolvieron el sólido blanco resultante (0,59 g) y cloruro de 3,4,6-tri-O-acetil- β -D-glucopiranosilo (0,50 g, 1,54 mmol) en tolueno (10 ml) y se le añadieron a la disolución tamices moleculares de 4A (0,50 g) y se agitó a 100°C durante 2 horas bajo una atmósfera de nitrógeno. Se concentró la mezcla de reacción a presión reducida y entonces se purificó el residuo mediante cromatografía en columna (gel de sílice, 50 g, eluida con un disolvente mixto de n-hexano:acetato de etilo = 1:2) para obtener una mezcla del compuesto del título y 3-(3,4,6-tri-O-acetil- α -D-glucopiranosil)- α^4, α^5 -di-O-acetilpiridoxina (0,38 g, rendimiento: 46%, $\alpha:\beta = 0,3:0,7$) como un aceite de color amarillo pálido.

$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) δ ppm: 2,0-2,2 (15H, m), 2,59 (2,3H, s), 2,67 (0,7H, s), 3,4-4,8 (6H, m), 5,0-5,6 (6H, m), 8,35 (0,2H, s), 8,38 (0,8H, s).

b) 3- α -D-Glucósido de piridoxina

Se disolvió el compuesto del ejemplo 10, a) (0,37 g, 0,69 mmol) en metanol (4 ml) y agua (2 ml) y se le añadió hidróxido de potasio (0,34 g, 5,15 mmol) con agitación con enfriamiento con hielo de modo que se disolviera el hidróxido de potasio en la disolución. Entonces, se agitó la disolución a temperatura ambiente durante 1 hora. Se neutralizó la mezcla de reacción con ácido clorhídrico 1 N y se concentró a presión reducida y entonces se disolvió el residuo en agua (14 ml), se le añadieron tampón acetato de sodio 1 M (1,6 ml) y β -glucosidasa (Oriental Yeast, derivada de almendras, 4 mg, 147 U) y se incubó a 37°C durante 14 horas. Se concentró la mezcla de reacción a presión reducida y entonces se purificó el residuo mediante cromatografía en columna (Chromatorex ODS-1020T, 10 g, eluida con agua). Se disolvió el sólido resultante en agua (10 ml) y se le añadió carbono activado (al 50% húmedo, 10 mg) y se agitó la mezcla a 60°C durante 30 minutos. Se separó el carbono activado mediante filtración y entonces se evaporó el agua a presión reducida para obtener el compuesto del título (54 mg, rendimiento: 24%) como un polvo cristalino blanco. Este compuesto no se hidrolizó con β -glucosidasa (Oriental Yeast, derivada de almendras) y se hidrolizó completamente con α -glucosidasa (Roche, derivada de *Saccharomyces cerevisiae*) para

liberar piridoxina. Por tanto, se confirmó que el tipo de anómero de este compuesto era de tipo α .

Rotación específica $[\alpha]_D = +141,8^\circ$ ($c = 1,0$, H_2O).

Punto de fusión: de 201 a 202°C.

5 1H -RMN ($DMSO-d_6$) δ ppm: 2,49 (3H, s), 3,1-3,5 (3H, m), 3,5-3,7 (2H, m), 3,8-3,9 (1H, m), 4,5-4,8 (5H, m), 4,9-5,1 (3H, m), 5,1-5,3 (2H, m), 5,45 (1H, d, $J=5,3$ Hz), 8,16 (1H, s).

Ejemplo de prueba 1 (estabilidad frente a la luz de 3- β -D-glucósido de piridoxina)

10 Se encerró una disolución acuosa al 0,5% (p/v) de 3- β -D-glucósido de piridoxina (pH 6,7) en un volumen de 0,3 ml en una ampolla de vidrio de 1 ml de volumen y se irradió con una lámpara fluorescente D65 (Toshiba) durante 14 días. Se realizó la irradiación a temperatura ambiente con una iluminación de 13.000 Lx. Se analizaron muestras antes de la irradiación y tras 1 día, 7 días y 14 días desde la irradiación mediante HPLC para medir el contenido en 3- β -D-glucósido de piridoxina. Se trató una disolución de clorhidrato de piridoxina de la misma concentración (ajustada a pH 6,7) de la misma manera y se compararon los resultados. Las condiciones de la medición mediante HPLC fueron las siguientes.

Columna: Inertsil ODS-3 (5 μ m, ϕ 4,6 x 150 mm, GL Science Inc.)

15 Eluyente: acetonitrilo:el 0,1% (v/v) de ácido trifluoroacético, 1-hexanosulfonato de sodio 5 mM = 1:9

Velocidad de flujo: 0,5 ml/min

Detección: UV 280 nm

Temperatura de columna: 40°C

20 Los resultados se muestran en la figura 1. El clorhidrato de piridoxina se descompuso casi por completo en un día, mientras que no se observó la descomposición de 3- β -D-glucósido de piridoxina ni siquiera tras la irradiación con la lámpara durante 14 días y por tanto se encontró que la estabilidad frente a la luz del mismo mejoraba notablemente. Además, la disolución acuosa de clorhidrato de piridoxina se volvió de color amarillo pálido tras la irradiación con luz, mientras que no se observó coloración para la disolución acuosa de 3- β -D-glucósido de piridoxina.

Ejemplo de prueba 2 (estabilidad térmica de 3- β -D-glucósido de piridoxina)

25 Se selló una disolución acuosa al 0,5% (p/v) de 3- β -D-glucósido de piridoxina (pH 6,7) en un volumen de 0,3 ml en una ampolla de vidrio de 1 ml de volumen y se mantuvo a 50°C con protección frente a la luz. Se calentó la muestra durante 90 días y se analizó durante el calentamiento mediante HPLC (las condiciones de análisis eran las mismas que las aplicadas en el ejemplo de prueba 1) para medir el contenido en 3- β -D-glucósido de piridoxina. Se trató una disolución de clorhidrato de piridoxina de la misma concentración (ajustada a pH 6,7) de la misma manera y se compararon los resultados.

30 Los resultados se muestran en la figura 2. Aproximadamente el 20% del clorhidrato de piridoxina se descompuso mediante calentamiento a 50°C durante 90 días, mientras que casi no se observó descomposición de 3- β -D-glucósido de piridoxina. Además, la disolución acuosa de clorhidrato de piridoxina se volvió de color amarillo tras el calentamiento a 50°C durante 90 días, mientras que no se observó coloración para la disolución acuosa de 3- β -D-glucósido de piridoxina.

Ejemplo de prueba 3 (estabilidad frente a la luz de clorhidrato de 3- β -D-glucósido de piridoxina y diversos 3-glicósidos)

40 Se sellaron disoluciones acuosas (al 0,5 (p/v)) de clorhidrato de 3- β -D-glucósido de piridoxina, 3- β -D-glucósido de piridoxal, 3- β -D-glucósido de piridoxamina, 3- β -D-galactósido de piridoxina y clorhidrato de piridoxina (ajustadas a pH de 6,3 a 7,2 con HCl o NaOH) cada una en un volumen de 0,3 ml en una ampolla de vidrio de 1 ml de volumen y se realizaron la irradiación con luz y la cuantificación mediante HPLC de la misma manera que en el ejemplo de prueba 1. Los resultados se muestran en la figura 3. El clorhidrato de piridoxina se descompuso casi por completo en un día, mientras que no se observó descomposición de clorhidrato de 3- β -D-glucósido de piridoxina, 3- β -D-glucósido de piridoxamina y 3- β -D-galactósido de piridoxina ni siquiera tras la irradiación con la lámpara durante 14 días y por tanto se encontró que la estabilidad frente a la luz de cada una de estas sustancias mejoraba notablemente. La estabilidad frente a la luz de 3- β -D-glucósido de piridoxal también mejoró claramente. Además, la disolución acuosa de clorhidrato de piridoxina se volvió de color amarillo pálido tras la irradiación con luz, mientras que no se observó coloración para las disoluciones acuosas de clorhidrato de 3- β -D-glucósido de piridoxina, 3- β -D-glucósido de piridoxal, 3- β -D-glucósido de piridoxamina y 3- β -D-galactósido de piridoxina.

50 Ejemplo de prueba 4 (estabilidad térmica de clorhidrato de 3- β -D-glucósido de piridoxina y diversos 3-glicósidos)

5 Se sellaron disoluciones acuosas (al 0,5 (p/v)) de clorhidrato de 3-β-D-glucósido de piridoxina, 3-β-D-glucósido de piridoxal, 3-β-D-glucósido de piridoxamina, 3-β-D-galactósido de piridoxina, clorhidrato de piridoxina, clorhidrato de piridoxal y clorhidrato de piridoxamina (ajustadas a pH de 6,3 a 7,2 con HCl o NaOH) cada una en un volumen de 0,3 ml en una ampolla de vidrio de 1 ml de volumen y se realizaron la irradiación con luz y análisis mediante HPLC de la misma manera que en el ejemplo de prueba 2. Los resultados se muestran en la figura 4. Aproximadamente el 15% del clorhidrato de piridoxina, el 55% del clorhidrato de piridoxal y el 85% del clorhidrato de piridoxamina se descompusieron mediante calentamiento a 50°C durante 90 días, mientras que casi no se observó descomposición de cada uno de clorhidrato de 3-β-D-glucósido de piridoxina, 3-β-D-glucósido de piridoxal, 3-β-D-glucósido de piridoxamina y 3-β-D-galactósido de piridoxina. Además, las disoluciones acuosas de clorhidrato de piridoxina, clorhidrato de piridoxal y clorhidrato de piridoxamina se volvieron de color amarillo tras el calentamiento a 50°C durante 90 días, mientras que no se observó coloración para las disoluciones acuosas de clorhidrato de 3-β-D-glucósido de piridoxina, 3-β-D-glucósido de piridoxal, 3-β-D-glucósido de piridoxamina y 3-β-D-galactósido de piridoxina.

Ejemplo de prueba 5 (estabilidad frente a la luz de 3-β-D-glucósido de N-(4-piridoxilmetileno)-L-serina)

15 Se sellaron disoluciones acuosas (al 0,5 (p/v)) de 3-β-D-glucósido de N-(4-piridoxilmetileno)-L-serina y clorhidrato de piridoxina (se ajustó el pH con HCl o NaOH) cada una en un volumen de 0,3 ml en una ampolla de vidrio de 1 ml de volumen y se realizaron la irradiación con luz y la cuantificación mediante HPLC de la misma manera que en el ejemplo de prueba 1. Los resultados se muestran en la figura 5. El clorhidrato de piridoxina se descompuso sustancialmente en un día, mientras que no se observó descomposición para 3-β-D-glucósido de N-(4-piridoxilmetileno)-L-serina ni siquiera tras la irradiación con la lámpara durante 14 días y por tanto se encontró que la estabilidad frente a la luz del mismo mejoraba notablemente.

Ejemplo de prueba 6 (estabilidad frente a la luz de 3,4'-fosfato cíclico de sodio de piridoxina y 3-fosfato de disodio de piridoxina)

25 Se sellaron disoluciones acuosas (al 0,5 (p/v)) de 3,4'-fosfato cíclico de sodio de piridoxina y 3-fosfato de disodio de piridoxina (ajustadas a pH de 6,5 a 6,8) cada una en un volumen de 0,3 ml en una ampolla de vidrio de 1 ml de volumen y se realizaron la irradiación con luz y la cuantificación mediante HPLC de la misma manera que en el ejemplo de prueba 1. Los resultados se muestran en la figura 6. El clorhidrato de piridoxina se descompuso sustancialmente en un día, mientras que no se observó descomposición para el 3,4'-fosfato cíclico de sodio de piridoxina ni siquiera tras la irradiación con la lámpara durante 14 días y por tanto se encontró que la estabilidad frente a la luz del mismo mejoraba notablemente. La estabilidad frente a la luz del 3-fosfato de disodio de piridoxina también mejoró claramente. Además, la disolución acuosa de clorhidrato de piridoxina se volvió de color amarillo pálido mediante la irradiación con luz, mientras que las disoluciones acuosas de 3,4'-fosfato cíclico de sodio de piridoxina y 3-fosfato de disodio de piridoxina no se colorearon.

Ejemplo de prueba 7 (estabilidad frente a la luz de 3,4'-fosfato cíclico de magnesio de piridoxina)

35 Se selló una disolución acuosa (al 0,5% (p/v)) de 3,4'-fosfato cíclico de magnesio de piridoxina (ajustada a pH de 6,5 a 6,8) en un volumen de 0,3 ml en una ampolla de vidrio de 1 ml de volumen y se realizaron la irradiación con luz durante 7 días y la cuantificación mediante HPLC de la misma manera que en el ejemplo de prueba 1. Los resultados se muestran en la figura 7.

Ejemplo de prueba 8 (estabilidad frente a la luz de disolución acuosa de 3-α-D-glucósido de piridoxina)

40 Se selló una disolución acuosa (al 0,5% (p/v)) de 3-α-D-glucósido de piridoxina (ajustada a pH de 6,5 a 6,8) en un volumen de 0,3 ml en una ampolla de vidrio de 1 ml de volumen y se realizaron la irradiación con luz durante 1 día y la cuantificación mediante HPLC de la misma manera que en el ejemplo de prueba 1. Los resultados se muestran en la figura 8.

Ejemplo de prueba 9 (estabilidad frente a la luz de agente formulado de 3-sulfato de sodio de piridoxina)

45 Se sintetizó 3-sulfato de sodio de piridoxina según el método descrito en la bibliografía (The Journal of Biological Chemistry, 262, págs. 2642-2644, 1987). Se selló una disolución acuosa (al 0,5% (p/v)) de 3-sulfato de sodio de piridoxina (ajustada a pH de 6,5 a 6,8) en un volumen de 0,3 ml en una ampolla de vidrio de 1 ml de volumen y se realizaron la irradiación con luz durante 14 días y la cuantificación mediante HPLC de la misma manera que en el ejemplo de prueba 1. Los resultados se muestran en la figura 9.

50 Ejemplo de prueba 10 (estabilidad térmica de 3,4'-fosfato cíclico de sodio de piridoxina)

55 Se sellaron disoluciones acuosas al 0,5% (p/v) de 3,4'-fosfato cíclico de sodio de piridoxina y clorhidrato de piridoxina (ajustadas a pH de 6,5 a 6,8) cada una en un volumen de 0,3 ml en una ampolla de vidrio de 1 ml de volumen y se realizaron el calentamiento a 50°C y análisis mediante HPLC de la misma manera que en el ejemplo de prueba 2. Los resultados se muestran en la figura 10. Aproximadamente el 15% del clorhidrato de piridoxina se descompuso mediante calentamiento a 50°C durante 90 días, mientras que casi no se observó descomposición de

3,4'-fosfato cíclico de sodio de piridoxina. Además, la disolución acuosa de clorhidrato de piridoxina se volvió de color amarillo tras el calentamiento a 50°C durante 90 días, mientras que no se observó coloración para la disolución acuosa de 3,4'-fosfato cíclico de sodio de piridoxina.

Ejemplo de prueba 11 (loción)

5 Se calentaron una formulación de ceramida (0,1 g), 1,3-butilenglicol (2,5 g), dipropilenglicol (2,5 g) y metilparabeno (0,01 g) a 80°C y se agitaron hasta que la mezcla se volvió transparente. Se enfrió la mezcla hasta 35°C, entonces se le añadieron 0,1 g de un derivado de vitamina B6 (3-β-D-glucósido de piridoxina, clorhidrato de 3-β-D-glucósido de piridoxina o 3,4-fosfato cíclico de sodio de piridoxina: en los ejemplos de prueba 11 a 16 mencionados a
10 continuación, el "derivado de vitamina B6" significa uno de estos tres tipos de sustancias) o 0,1 g de 3-sulfato de sodio de piridoxina, 1,0 g de polisacárido fermentado con sorbitol y 90 ml de agua purificada con agitación y se agitó la mezcla hasta que se disolvieron las sustancias añadidas. Se ajustó la disolución a pH 6,4 con ácido cítrico acuoso al 10% y se enrasó a 100 ml con agua purificada para preparar una loción. En esta preparación, no se observaron precipitados ni similares. Se llenó la loción preparada en un volumen de 6 ml en una botella de vidrio y se expuso a la luz de una lámpara fluorescente D65 a una iluminación total de 0, 60.000, 180.000 ó 300.000 lux·h y entonces se
15 cuantificó el derivado de vitamina B6. Se almacenó la misma muestra por separado a 50°C y tras 0 días, 14 días, un mes y dos meses, se cuantificó el derivado de vitamina B6 mediante el método de HPLC descrito en el ejemplo de prueba 1.

Los resultados obtenidos tras la irradiación con la lámpara se muestran en la figura 11. El clorhidrato de piridoxina restante era del 42% tras la irradiación a 180.000 lux·h durante 3 días y del 30% tras la irradiación a 300.000 lux·h
20 durante 5 días y por tanto el clorhidrato de piridoxina se descompuso casi por completo. Mientras que no se observó sustancialmente descomposición para el derivado de vitamina B6 ni siquiera tras la irradiación con la lámpara durante 5 días y por consiguiente, se encontró que la estabilidad frente a la luz del mismo era mucho más excelente.

Los resultados obtenidos tras el almacenamiento a 50°C se muestran en la figura 12. No se observó descomposición en absoluto o casi ninguna descomposición del derivado de vitamina B6 y por tanto la estabilidad térmica del mismo fue mayor que la del clorhidrato de piridoxina.
25

Ejemplo de prueba 12 (champú)

Se añadieron metiltaurina de ácidos grasos de aceite de coco de sodio (10,0 g), sulfato de sodio de alquil éter de polioxitileno (20,0 g), lauril-dimetilacetato-betaína (10,0 g), dietanolamida de ácidos grasos de aceite de coco (4,0 g), propilenglicol (2,0 g), derivado de vitamina B6 (0,1 g) y paraoxibenzoato de metilo (0,01 g) a agua purificada (40 ml) y se calentó hasta 70°C para su disolución. Se enfrió la disolución hasta una temperatura inferior a 35°C y entonces se ajustó a pH 6,8 con ácido cítrico acuoso al 10% y se enrasó a 100 ml con agua purificada para preparar un champú. En esta preparación, no se observaron precipitados ni similares. Se llenó el champú preparado en un volumen de 6 ml en una botella de vidrio y se expuso a la luz de una lámpara fluorescente D65 a una iluminación total de 0, 60.000, 180.000 ó 300.000 lux·h y entonces se cuantificó el derivado de vitamina B6. Se almacenó la
30 misma muestra por separado a 50°C y tras 0 días, 14 días, un mes y dos meses, se cuantificó el derivado de vitamina B6 mediante el método de HPLC de la misma manera que en el ejemplo de prueba 11 mencionado anteriormente.
35

Los resultados obtenidos tras la irradiación con la lámpara se muestran en la figura 13. El clorhidrato de piridoxina se descompuso en tales grados que el clorhidrato de piridoxina restante era del 60% tras la irradiación a 180.000 lux·h durante 3 días y del 58% tras la irradiación a 300.000 lux·h durante 5 días. Mientras que no se observó sustancialmente descomposición para el derivado de vitamina B6 ni siquiera tras la irradiación con la lámpara durante 5 días y se encontró que la estabilidad frente a la luz del mismo era mucho más excelente.
40

Los resultados obtenidos tras el almacenamiento a 50°C se muestran en la figura 14. No se observó descomposición en absoluto o casi ninguna descomposición del derivado de vitamina B6 y por tanto la estabilidad térmica del mismo fue mayor que la del clorhidrato de piridoxina.
45

Ejemplo 13 (loción ocular)

Se disolvieron metilsulfato de neostigmina (5 mg), L-aspartato de potasio (0,4 g), ácido bórico (5 mg), borato de sodio (5 mg), paraoxibenzoato de metilo (10 mg), clorobutanol (0,1 g) y derivado de vitamina B6 (0,1 g) en agua purificada esterilizada (70 ml). Tras su disolución, se enrasó la disolución a 100 ml con agua purificada esterilizada para preparar una loción ocular. En esta preparación, no se observaron precipitados ni similares. Se puso la loción ocular preparada en un volumen de 6 ml en una botella de vidrio y se expuso a la luz de una lámpara fluorescente D65 a una iluminación total de 0, 60.000, 180.000 ó 300.000 lux·h y entonces se cuantificó el derivado de vitamina B6 mediante el método de HPLC de la misma manera que en el ejemplo de prueba 11 mencionado anteriormente.
50

Los resultados obtenidos tras la irradiación con la lámpara se muestran en la figura 15. El clorhidrato de piridoxina se descompuso en tales grados que el clorhidrato de piridoxina restante era del 68% tras la irradiación a 180.000 lux·h durante 3 días y del 49% tras la irradiación a 300.000 lux·h durante 5 días. Mientras que no se observó sustancialmente descomposición para el derivado de vitamina B6 ni siquiera tras la irradiación con la lámpara
55

durante 5 días y se encontró que la estabilidad frente a la luz del mismo era mucho más excelente.

Ejemplo 14 (agua para bebida)

5 Se disolvieron glucosa (4,6 g), aspartamo (0,01 g), ácido cítrico (0,1 g), cloruro de sodio (0,02 g), cloruro de potasio (0,02 g), cloruro de magnesio (0,01 g), lactato de calcio (0,04 g), derivado de vitamina B6 (0,01 g), L-aspartato de sodio (0,07 g), L-glutamato de sodio (0,02 g), L-arginina (0,02 g) y componente aromático (0,1 g) en agua purificada (70 ml) y entonces se enrasó a 100 ml con agua purificada para preparar un agua para bebida. En esta preparación, no se observaron precipitados ni similares. Se llenó el agua para bebida preparada en un volumen de 6 ml en una botella de vidrio y se expuso a la luz de una lámpara fluorescente D65 a una iluminación total de 0, 60.000, 180.000 ó 300.000 lux·h y entonces se cuantificó el derivado de vitamina B6 mediante el método de HPLC de la misma manera que en el ejemplo de prueba 1.

10 Los resultados obtenidos tras la irradiación con la lámpara se muestran en la figura 16. El clorhidrato de piridoxina se descompuso en tales grados que el clorhidrato de piridoxina restante era del 68% tras la irradiación a 180.000 lux·h durante 3 días y del 56% tras la irradiación a 300.000 lux·h durante 5 días. Mientras que no se observó sustancialmente descomposición para el derivado de vitamina B6 ni siquiera tras la irradiación con la lámpara durante 5 días y se encontró que la estabilidad frente a la luz del mismo era mucho más excelente.

Ejemplo 15 (alimento para perros)

20 Se añadió un derivado de vitamina B6 (0,1 g) a harina de trigo (10 g) y se mezcló uniformemente. A la mezcla se le añadió además sucesivamente carne de pechuga de pollo (40,0 g), proteína de soja (30,0 g), glucosa (5,0 g), ácido cítrico (0,001 g), cloruro de sodio (1,0 g), sulfato de cobre (0,01 g), sulfato de hierro (0,01 g), ácido sórbico (0,3 g) y propilenglicol (5,0 g) y se mezcló uniformemente. Se completó la mezcla hasta 100 g con agua purificada y se mezcló uniformemente para preparar un alimento para perros.

25 Se puso el alimento para perros preparado en una cantidad de 5 g en una placa Petri y se expuso a la luz de una lámpara fluorescente D65 a una iluminación total de 0, 60.000, 180.000 ó 300.000 lux·h y entonces se cuantificó el derivado de vitamina B6 mediante el método de HPLC de la misma manera que en el ejemplo de prueba 11 mencionado anteriormente.

30 Los resultados obtenidos tras la irradiación con la lámpara se muestran en la figura 17. El clorhidrato de piridoxina se descompuso en tales grados que el clorhidrato de piridoxina restante era del 90% tras la irradiación a 180.000 lux·h durante 3 días y del 85% tras la irradiación a 300.000 lux·h durante 5 días. Mientras que no se observó sustancialmente descomposición para el derivado de vitamina B6 ni siquiera tras la irradiación con la lámpara durante 5 días y se encontró que la estabilidad frente a la luz del mismo era mucho más excelente.

Ejemplo 16 (prueba para el cambio en la formulación)

35 Se mezclaron uniformemente pantotenato de calcio (1 g) y un derivado de vitamina B6 (1 g) en un mortero para preparar una muestra en forma de un polvo para la prueba de estabilidad. Se almacenó la muestra situada en una botella de vidrio abierta en un horno a 40°C con una humedad del 75%. Se examinó el aspecto de la muestra mediante inspección visual tras 0 días 14 días y un mes y se cuantificaron el derivado de vitamina B6 y el pantotenato de calcio mediante el método de HPLC de la misma manera que en el ejemplo de prueba 11 mencionado anteriormente, siempre que la longitud de onda de detección para el pantotenato de calcio fuese de 210 nm.

40 El cambio en la formulación se muestra en la figura 18. En cuanto a la formulación con clorhidrato de piridoxina, el pantotenato de calcio restante era del 81%, el aspecto blanco se volvió marrón y se observaron bloqueo y deliquesencia tras el almacenamiento a 40°C y humedad del 75% durante un mes. En cuanto a la formulación con el derivado de vitamina B6, no se observó sustancialmente descomposición de la formulación y por tanto se confirmó la mejora de la estabilidad en la formulación.

45 Se disolvieron pantotenato de calcio (0,1 g) y un derivado de vitamina B6 (0,1 g) en agua purificada y se enrasaron a 100 ml para preparar una muestra para la prueba de estabilidad en forma de una disolución. Se almacenó la muestra que se llenó en una botella de vidrio sellada a 40°C. Se examinó el aspecto de la muestra mediante inspección visual tras 0 días, 14 días y un mes y se cuantificaron el derivado de vitamina B6 y el pantotenato de calcio mediante el método de HPLC de la misma manera que en el ejemplo de prueba 11 mencionado anteriormente, siempre que la longitud de onda de detección para el pantotenato de calcio fuese de 210 nm.

50 El cambio en la formulación se muestra en la figura 19. En cuanto a la formulación con clorhidrato de piridoxina, el pantotenato de calcio restante era del 83% tras el almacenamiento a 40°C durante un mes. En cuanto a la formulación con el derivado de vitamina B6, no se observó sustancialmente descomposición de la formulación y por tanto se confirmó la mejora de la estabilidad en la formulación.

55 Ejemplo de prueba 17 (prueba para determinar la supresión de la producción de melanina y la tasa de supervivencia celular en células cultivadas)

5 Se usaron células de melanoma B16 de ratón cultivadas. Se añadió una cantidad apropiada de medio MEM que contenía FBS al 10% a los pocillos de dos placas de 6 pocillos y se inocularon las células de melanoma B16 y se incubaron a 37°C con un 5% en volumen de CO₂. Al día siguiente, se añadió una disolución que contenía muestra de modo que el medio contenía el derivado de vitamina B6 (3-β-D-glucósido de piridoxina o clorhidrato de 3-β-D-glucósido de piridoxina) a una concentración de sólidos final mostrada en la figura 20 y entonces se mezcló. Al 5º día del cultivo, se cambió el medio y se añadió de nuevo la disolución que contenía muestra. Al día siguiente, se retiró el medio y para una placa, se lavaron las células con tampón fosfato (pH 7,0) y entonces se recogieron. Entonces, se evaluó el grado de blanqueamiento de las células de melanoma B16 cultivadas según los criterios mencionados a continuación usando 100 µg/ml de ácido kójico como control. Los resultados se muestran en las siguientes tablas.

10 En las tablas, + significa "efecto de blanqueamiento comparable al del control", ± significa "efecto de blanqueamiento un poco más débil que el del control", X significa "sin efecto" y "-" significa que no se realizó la prueba. La tasa de crecimiento celular se indica con una razón relativa basada en la del control, que se toma como el 100%.

PN-3-β-G

Concentración final (µg/ml)	0	10	30	100	300	1000	-
Evaluación	X	X	X	X	±	+	-
Tasa de crecimiento celular (%)	100	101	101	101	101	102	-

PN-3-β-G·HCl

Concentración final (µg/ml)	0	-	-	100	333,3	1000	3333
Evaluación	X	-	-	X	X	X	+
Tasa de crecimiento celular (%)	100	-	-	100	100	97	87

15 A partir de los resultados mostrados en las tablas, se entiende claramente que los derivados de vitamina B6 (3-β-D-glucósido de piridoxina y clorhidrato de 3-β-D-glucósido de piridoxina) presentaron un efecto de supresión superior sobre la producción de melanina.

Ejemplo de prueba 18 (prueba para evaluar la supresión de la producción de melanina mediante la combinación con agente de blanqueamiento)

20 Se usaron células de melanoma B16 de ratón cultivadas. Se añadieron cada uno de un derivado de vitamina B6 (3-β-D-glucósido de piridoxina) y arbutina (Wako Pure Chemical Industries) disueltos en agua purificada a concentraciones dadas al medio a una concentración de 100 µM. Con cambios del medio durante el cultivo, se cultivaron las células durante 5 días y entonces se recogieron. Se contó el número de células y entonces se cuantificó la melanina intracelular. Como control al que se le añadió un disolvente, se usó el medio al que se le añadió agua purificada. Basándose en la cantidad de la melanina observada para el control al que se le añadió el disolvente, que se tomó como 1, la cantidad relativa de melanina intracelular observada para cada concentración de muestra se consideró una razón de producción de melanina. Los resultados se muestran en la figura 20.

25 Se demostró que el derivado de vitamina B6 (3-β-D-glucósido de piridoxina) combinado con el otro componente de blanqueamiento presentó un efecto de supresión superior sobre la producción de melanina. A partir de los resultados mencionados anteriormente, se concluyó que el derivado de vitamina B6 presenta satisfactoriamente un efecto de blanqueamiento más excelente mediante su combinación con otro componente de blanqueamiento.

30 Ejemplo de prueba 19 (prueba para determinar la dermatopatía producida por irradiación con ultravioleta en ratón lampiño)

35 Se evaluó si la muestra preparada mediante el siguiente método de preparación suprimía la formación de arrugas producida por irradiación con ultravioleta.

[Preparación de muestra (preparación anti-dermatopatía)]

40 Se disolvieron disolución de clorhidrato de 3-β-D-glucósido de piridoxina y dietilentriaminopentaacetato de pentasodio (DETAPAC) cada uno en una base (polietilenglicol 1000:alcohol etílico = 1:1) para preparar muestras a una concentración del 2% y se usaron las muestras para la prueba de evaluación de la piel usando irradiación con ultravioleta en ratones lampiños. Se usó DETAPAC como control positivo.

[Método de aplicación de muestra y método de irradiación con ultravioleta]

45 Se aplicaron a ratones (de 10 semanas de edad), en cada grupo que consistía en 8 ratones, cada una de las muestras mencionadas anteriormente en el lomo 90 minutos antes de la irradiación con ultravioleta y se irradiaron con rayos ultravioleta de una cantidad fijada (lámpara FL20 S-BLB de Toshiba) durante 2 horas (5 veces/semana) a lo largo de diez semanas para examinar el efecto de supresión sobre la formación de arrugas.

Se midieron los espectros de absorción ultravioleta de las muestras para confirmar que las muestras no tenían

influencia sobre la prueba de evaluación.

[Método de evaluación]

(Efecto de supresión sobre la formación de arrugas)

- 5 Se graduó la formación de arrugas tras la irradiación con ultravioleta de diez semanas según los "grados de fotoenvejecimiento de la piel" mencionados a continuación. Los resultados se indicaron como promedios de las puntuaciones para ocho ratones. Se modificaron los métodos de prueba y evaluación usados a partir de los descritos en el artículo de Bissett *et al.* (Photochem. Photobiol., volumen: 46, número: 3, página: 367-78, año: 1987).

<Grados de fotoenvejecimiento de la piel>

Puntuación	Condiciones
0	(1) Se forman líneas finas en vertical. (2) El color de la piel es rosado.
1	(1) Disminuyen las líneas finas.
2	(1) Desaparecen las líneas finas. (2) Se forman arrugas finas. (3) Empiezan a formarse bolsas.
3	(1) Se forman arrugas poco profundas. (2) El color de la piel comienza a volverse pálido desde el color rosado.
4	(1) Se forman arrugas profundas. (2) Empieza a desarrollarse esclerodermia. (3) Disminuye la elasticidad de la piel.
5	(1) Aumentan las arrugas profundas. (2) Aumentan las bolsas. (3) El color de la piel es xantosis.
6	(1) Se induce tumor. (2) Se pierde por completo la elasticidad de la piel.
7	(1) Aumenta el número de tumores. (2) Se agrava la paquimema.

- 10 Tal como se indica claramente a partir de los resultados mostrados en la figura 21, el derivado de vitamina B6 (clorhidrato de 3-β-D-glucósido de piridoxina) presentó un efecto de supresión sobre la formación de arrugas comparable o superior al de DETAPAC usado como control positivo. DETAPAC tiene una capacidad de quelación de hierro tal como se describe en el informe de Graf *et al.* (J. Biol. Chem., 259(6), págs. 3620-4, 1984) y se reconoce que un quelante de hierro suprime las arrugas y está implicado en la dermatopatía producida por la irradiación con ultravioleta tal como se demostró en el informe de Jurkiewicz *et al.* (Photochem. Photobiol, 59, págs. 14, 1994).

- 15 Ejemplo de prueba 20 (loción para la piel)

Se mezclaron uniformemente una disolución obtenida mezclando y disolviendo los siguientes componentes (3) a (5) y (9) a (11) y una disolución obtenida mezclando y disolviendo los siguientes componentes (1), (2), (6) a (8) y (12) para obtener una loción para la piel.

(Formulación)	(%)
(1) Glicerol	5,0
(2) 1,3-Butilenglicol	6,5
(3) Monolaurato de polioxietileno (20 E.O.)-sorbitano	1,2
(4) Alcohol etílico	8,0
(5) Derivado de vitamina B6 (3-β-D-glucósido de piridoxina)	0,001
(6) Glucósido de ácido L-ascórbico	0,5
(7) Ácido láctico	0,05
(8) Lactato de sodio	0,1
(9) Para-metoxicinamato de 2-etilhexilo	3,0
(10) Conservante	Cantidad suficiente
(11) Componente aromático	Cantidad suficiente
(12) Agua purificada	Cantidad residual

- 20 La loción para la piel preparada en el ejemplo de prueba 20 fue un cosmético superior que logró el alisado y blanqueamiento de la piel tras su aplicación dérmica. No se observaron precipitados ni similares en esta loción para la piel y la estabilidad también era favorable.

Ejemplo de prueba 21 (loción lechosa)

Se añadió una mezcla obtenida mezclando los siguientes componentes (13), (16) y (18), con calentamiento y

mantenida a 70°C, a una mezcla obtenida mezclando los siguientes componentes (1) a (9), (12) y (15), con calentamiento y mantenida a 70°C, se mezcló y se emulsionó uniformemente. Se enfrió esta emulsión, entonces se le añadieron además los componentes (10) y (11) y se mezcló uniformemente. A esta mezcla se le añadió el componente (14), se agitó suficientemente, se le añadió el componente (17) y se mezcló uniformemente para obtener una loción lechosa.

5

(Formulación)	(%)
(1) Monoestearato de polioxietileno (10 E.O.)-sorbitano	1,0
(2) Tetraoleato de polioxietileno (60 E.O.)-sorbitano	0,5
(3) Monoestearato de glicerilo	1,0
(4) Ácido esteárico	0,5
(5) Alcohol behenílico	0,5
(6) Escualano	8,0
(7) Palmitato de retinol *1	0,002
(8) Glicirrizinato de dipotasio *2	0,3
(9) Derivado de vitamina B6 (3-β-D-glucósido de piridoxina)	0,01
(10) Extracto de regaliz *3	0,1
(11) Ácido hialurónico	0,1
(12) Conservante	0,1
(13) Polímero de carboxivinilo	0,1
(14) Hidróxido de sodio	0,05
(15) Alcohol etílico	5,0
(16) Agua purificada	Cantidad residual
(17) Componente aromático	Cantidad suficiente
(18) Óxido de zinc *4	5,0
*1 Nippon Roche	
*2 Maruzen Pharmaceuticals	
*3 Maruzen Pharmaceuticals	
*4 Sigma	

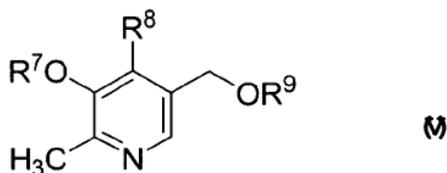
La loción lechosa preparada en el ejemplo de prueba 21 era un cosmético superior que logró el alisado y blanqueamiento de la piel tras su aplicación dérmica. No se observaron precipitados ni similares en esta loción lechosa y la estabilidad también era favorable.

Aplicabilidad industrial

- 10 Los compuestos de la presente invención representados por la fórmula general (I) se caracterizan por una estabilidad superior, especialmente una estabilidad frente a la luz notablemente mejorada. Los compuestos de la presente invención representados por la fórmula general (I) pueden prepararse eficazmente a bajo coste usando un compuesto representado por la fórmula general (IV) de la presente invención como producto intermedio de síntesis.
- 15 En las composiciones de la presente invención, se mejoran notablemente la estabilidad térmica y la estabilidad frente a la luz de derivados de vitamina B6 y otras vitaminas y se disminuye la reducción en el contenido de los componentes activos mencionados anteriormente tras procesos de distribución o almacenamiento a largo plazo. Además, las composiciones de la presente invención pueden presentar un efecto de blanqueamiento, efecto antienviejecimiento y efecto de supresión de la formación de arrugas por la exposición a luz ultravioleta superiores.

REIVINDICACIONES

1. Una composición para un cosmético, un medicamento, un producto alimenticio y/o un pienso que comprende un compuesto representado por la siguiente fórmula general (V) o una sal del mismo:



- 5 en la que R⁷ representa un grupo glicosilo, un grupo sulfato o un grupo fosfato cíclico unido a R⁸; R⁸ representa -CH₂OH, -CHO, -CH₂NH₂, -CH₂-residuo de aminoácido que significa un grupo que consiste en un aminoácido cuyo extremo amino-terminal se une a -CH₂- o -CH₂-OPO₂H; y R⁹ representa átomo de hidrógeno.
2. Una composición según la reivindicación 1, que comprende además al menos un tipo de vitamina.
- 10 3. La composición para cosméticos según la reivindicación 1, que es un agente de blanqueamiento, un agente antienvjecimiento y/o un agente para suprimir la formación de arrugas por la exposición a luz ultravioleta.
4. Una composición según la reivindicación 1, que comprende uno o más tipos de sustancias seleccionadas del grupo que consiste en un agente de blanqueamiento, un antioxidante, un antiflogístico, un acelerador de la circulación, un agente de activación celular y un absorbente de ultravioleta, que se usa como agente de blanqueamiento, agente antienvjecimiento y/o agente para suprimir la formación de arrugas por la
- 15 exposición a luz ultravioleta.
5. Una composición según la reivindicación 4, en la que el agente de blanqueamiento es arbutina.
6. Un método para estabilizar una vitamina contenida en una composición para un cosmético, un medicamento, un producto alimenticio y/o un pienso añadiendo un compuesto representado por la fórmula general (V) o una sal del mismo, mencionado en la reivindicación 1, a la composición.
- 20

Fig.1

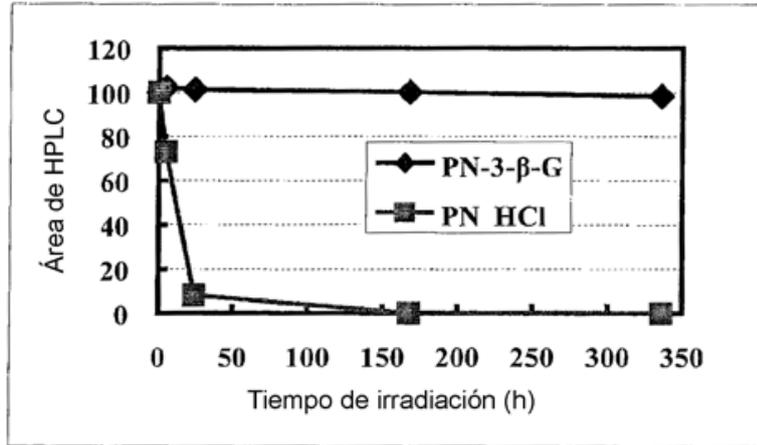


Fig.2

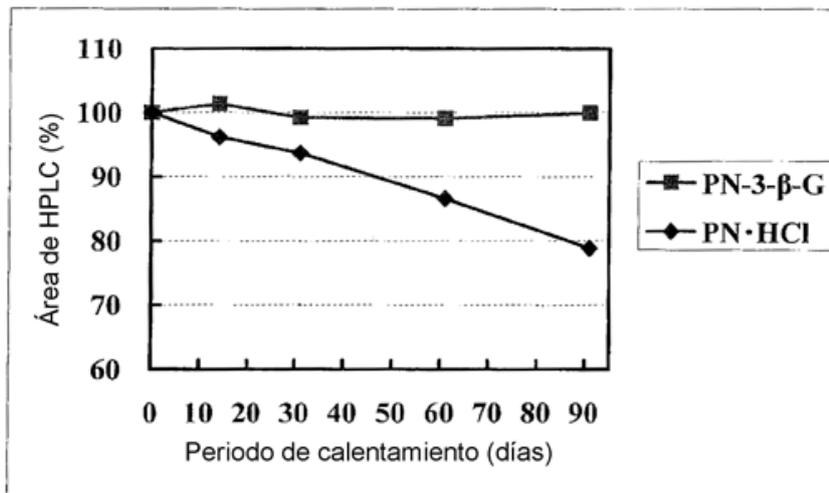


Fig.3

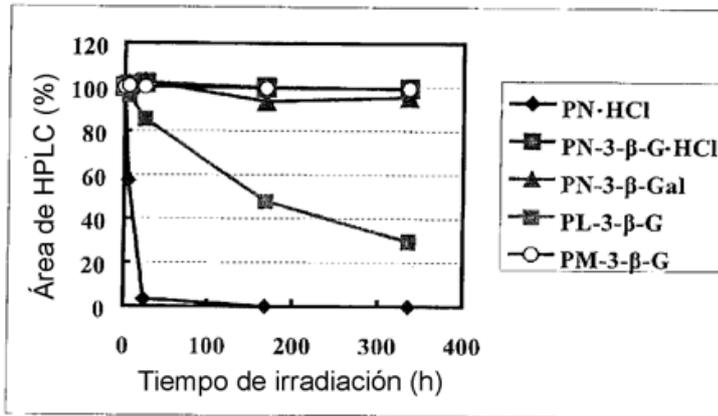


Fig.4

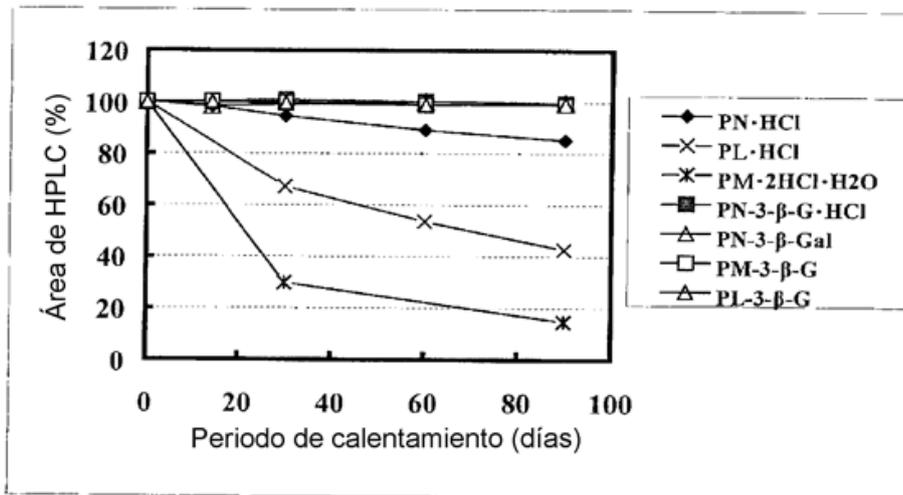


Fig.5

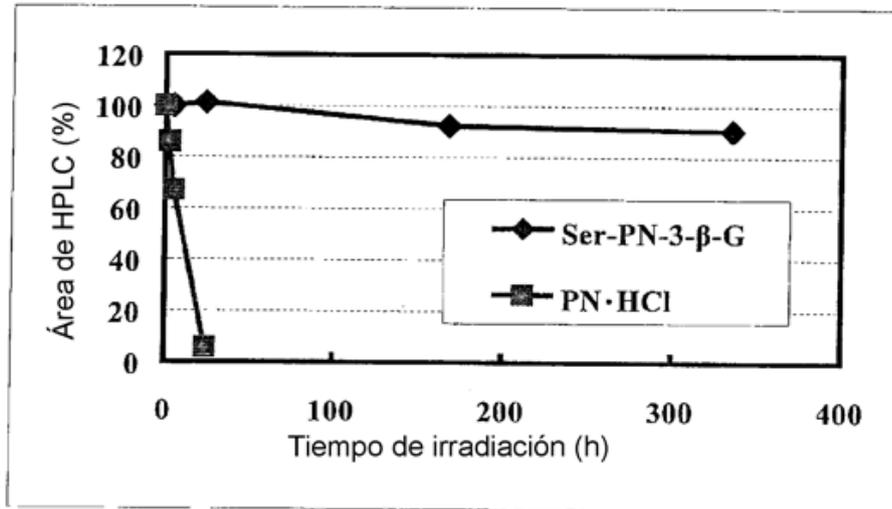


Fig.6

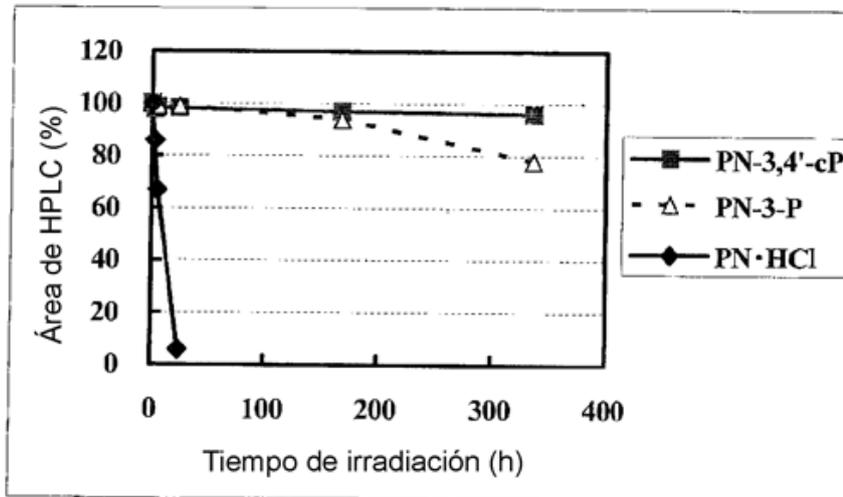


Fig.7

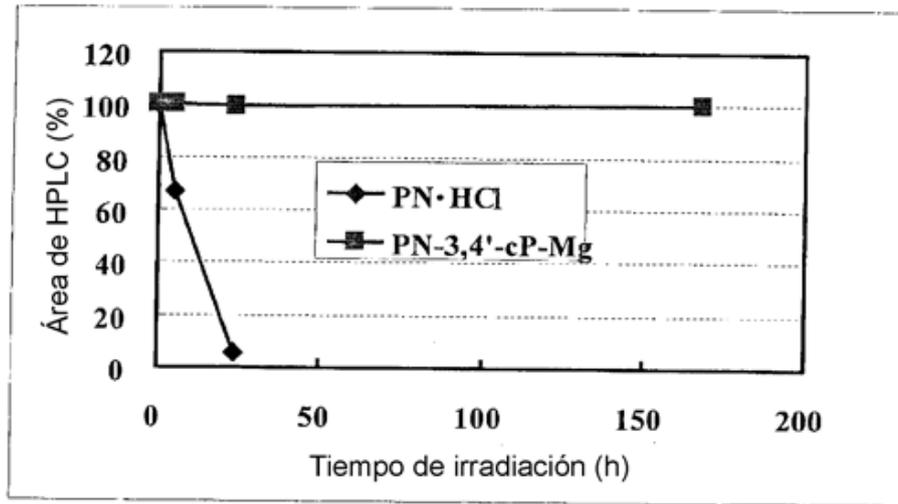


Fig.8

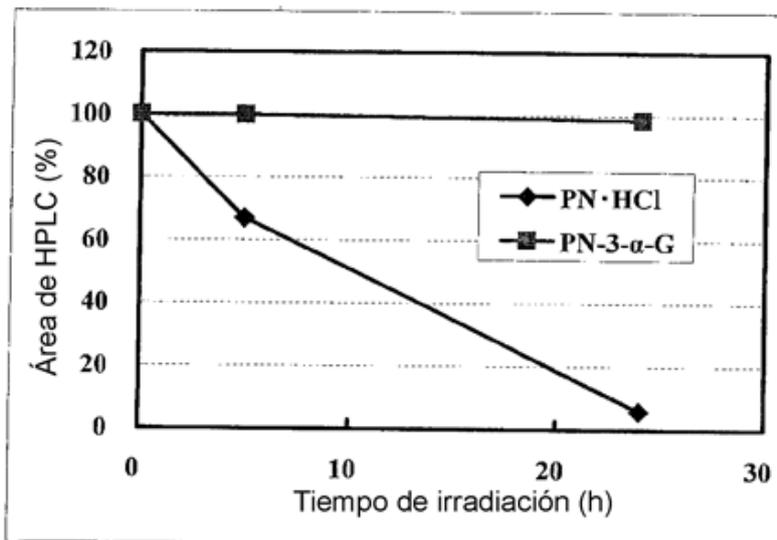


Fig.9

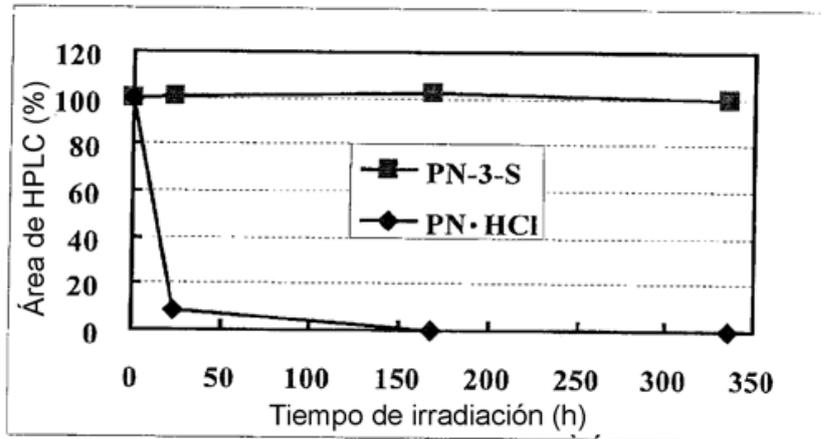


Fig.10

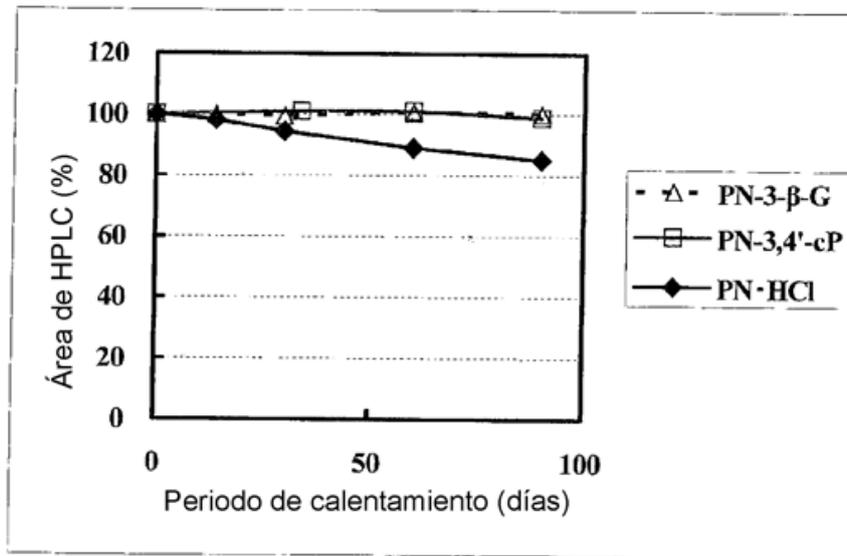


Fig.11

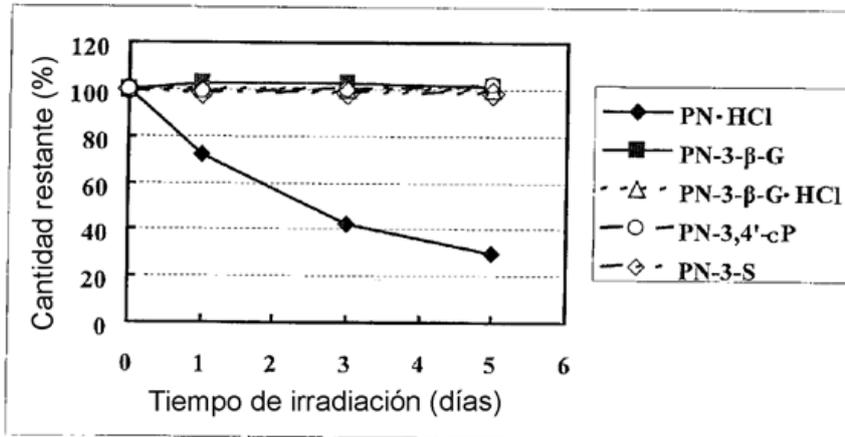


Fig.12

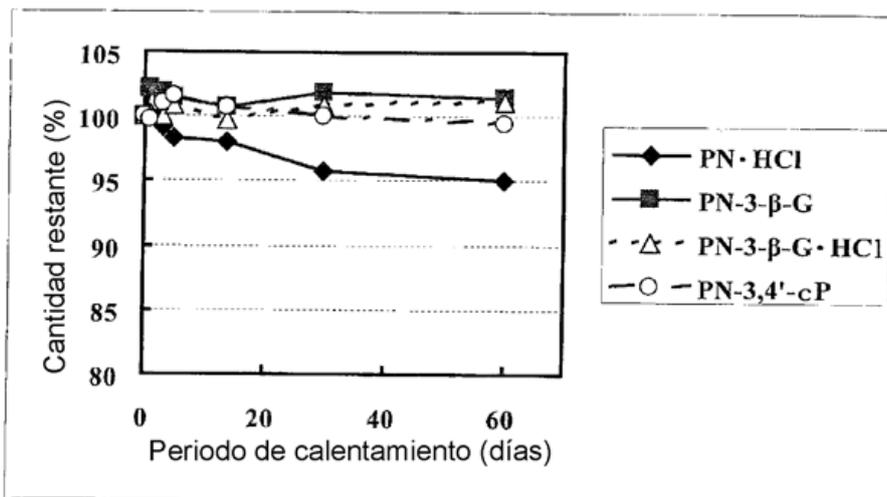


Fig.13

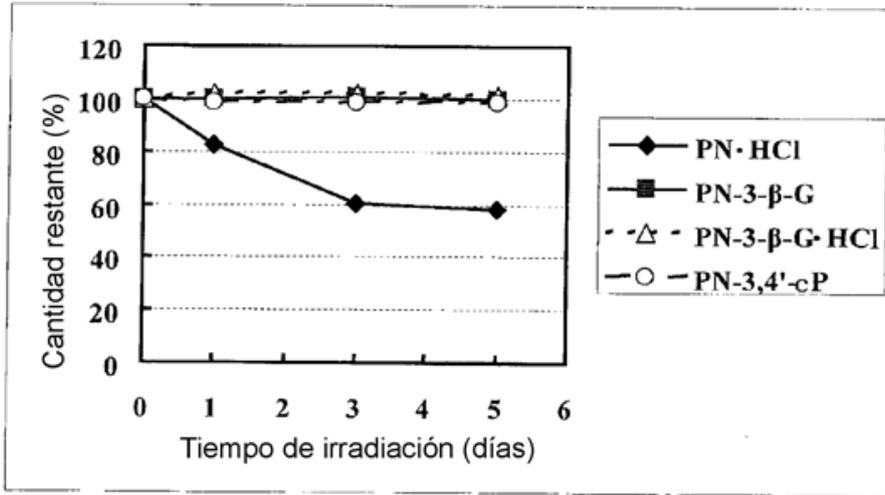


Fig.14

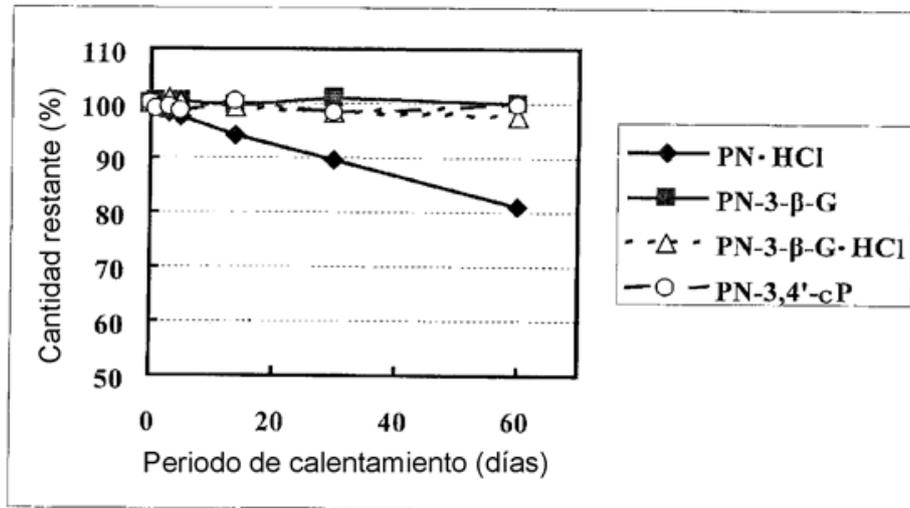


Fig.15

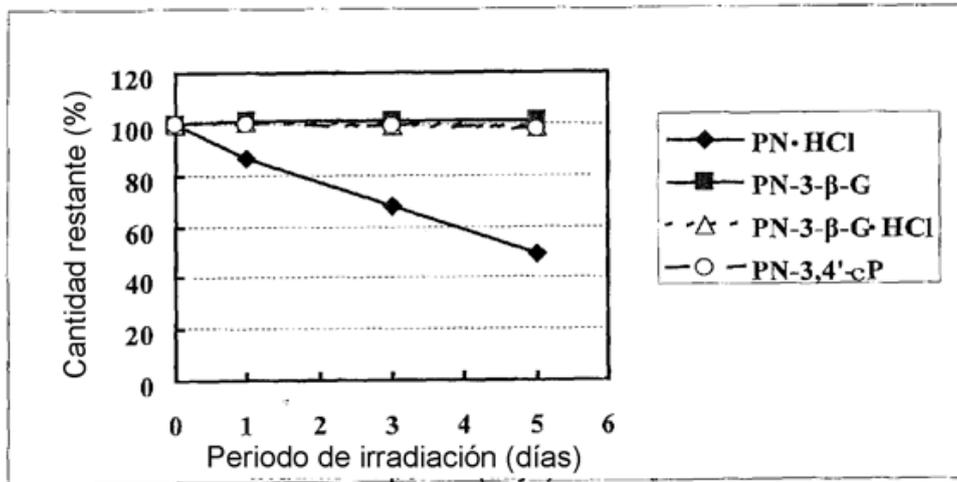


Fig.16

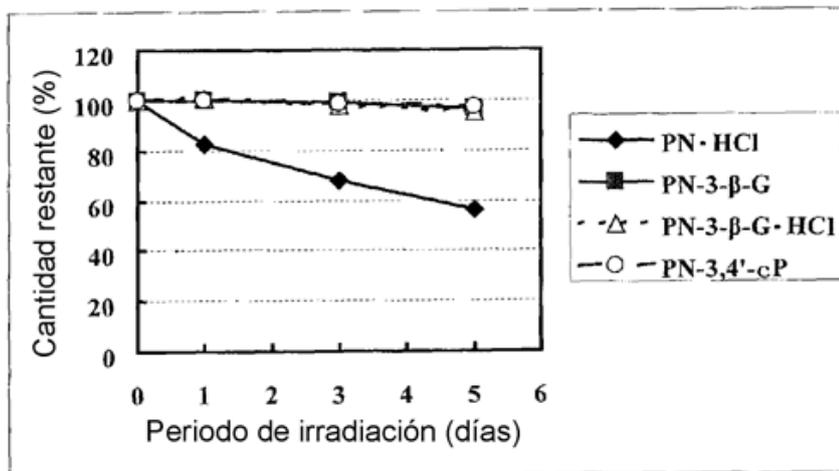


Fig.17

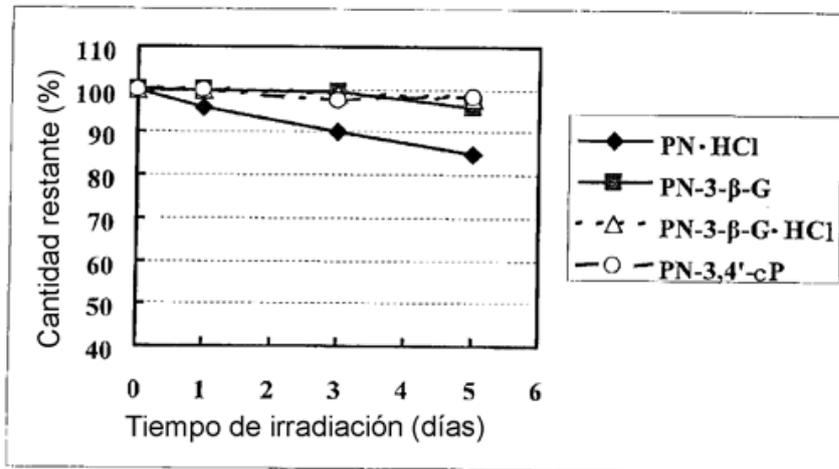


Fig.18

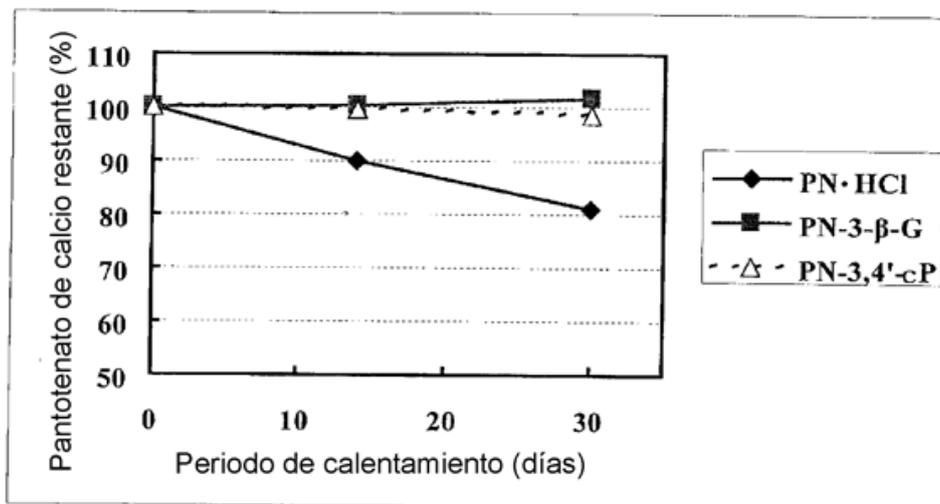


Fig.19

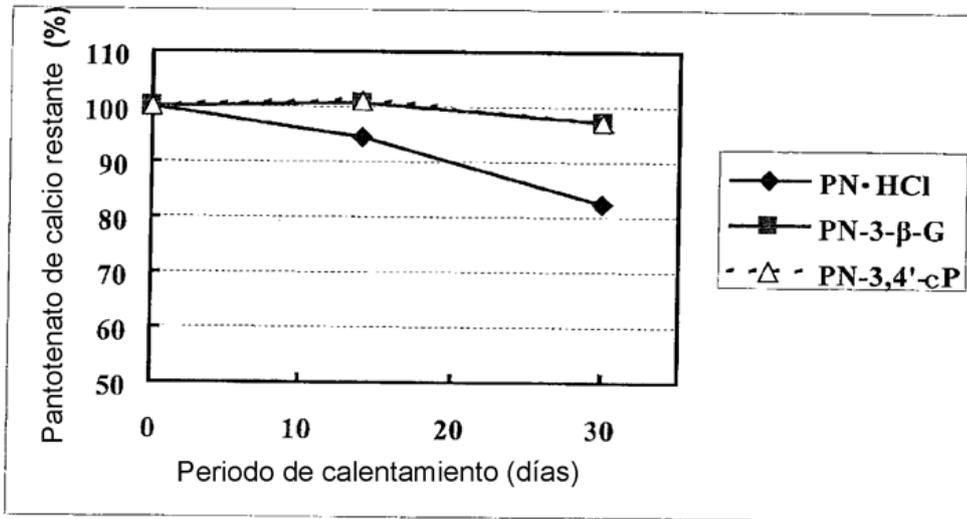


Fig.20

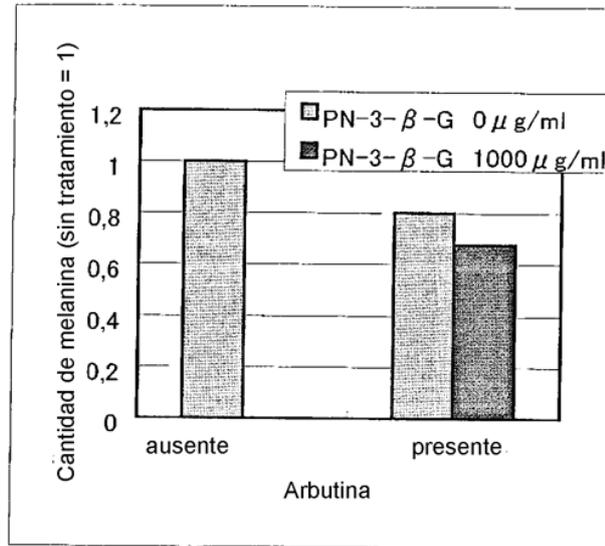


Fig.21

