(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 297 125**

(51) Int. Cl.:
C07C 403/24 (2006.01)
C07D 213/80 (2006.01)
C07D 307/68 (2006.01)
C07D 333/24 (2006.01)
A23K 1/16 (2006.01)
A23K 1/18 (2006.01)
A23L 1/275 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Número de solicitud europea: **03702554 .1**
(86) Fecha de presentación : **29.01.2003**
(87) Número de publicación de la solicitud: **1474388**
(87) Fecha de publicación de la solicitud: **10.11.2004**

(54) Título: **Ésteres de astaxantina.**

(30) Prioridad: **06.02.2002 EP 02002728**

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.05.2008

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.05.2008

(73) Titular/es: **DSM IP Assets B.V.**
Het Overloon 1
6411 TE Heerlen, NL

(72) Inventor/es: **Gloor, Arnold y**
Simon, Werner

(74) Agente: **Lehmann Novo, María Isabel**

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).

Venta de fascículos: Oficina Española de Patentes y Marcas. Pº de la Castellana, 75 – 28071 Madrid

DESCRIPCIÓN

Ésteres de astaxantina.

Los carotenoides son un grupo de pigmentos orgánicos de origen natural que son responsables, por ejemplo, de los colores rojo, anaranjado y amarillo de la piel, la carne, la concha o caparazón y el exoesqueleto de los animales acuáticos.

El carotenoide principal en el sistema acuático es la astaxantina, y la función de la astaxantina en la acuicultura (animales acuáticos) es doble. En primer lugar, puede ser movilizada y utilizada durante la maduración y en los momentos de estrés por ciertas especies de peces, por ejemplo, los salmónidos (salmón y trucha), que han desarrollado sistemas de depósito y almacenamiento de astaxantina en su carne; por tratarse de un antioxidante biológico natural, la astaxantina es más eficaz que la vitamina E o el beta-caroteno en este sentido. En segundo lugar, la astaxantina es un colorante natural de la carne y la piel de los animales acuáticos. El color característico rojo-rosado de la carne por ejemplo de los salmónidos y muchos crustáceos atribuido a la astaxantina desempeña una función importante en el atractivo estético del producto alimenticio terminado: el color forma parte del atractivo culinario por ejemplo de los salmónidos, los camarones y también el besugo. La astaxantina es responsable de esta coloración, y puesto que los peces y los crustáceos no pueden sintetizar la astaxantina por sí mismos, dependen de su ingestión en los alimentos para su coloración. En condiciones de cultivo intensivo, la astaxantina está incluida normalmente en los alimentos completos para salmónidos a fin de intensificar el color carne deseado. Esto es esencial si el producto de piscicultura pretende imitar a su contraparte silvestre y tener el máximo de atractivo para los consumidores, cuya elección de compra generalmente es influida por el aspecto visual de tales productos.

En todo el ciclo de crecimiento de los animales acuáticos la pigmentación de la carne es influida por varios factores exógenos y endógenos. En forma colectiva estos factores originan una gran variación en la pigmentación de la carne en cualquier población de una especie de peces o crustáceos.

Se sabe que el depósito de astaxantina en la carne de los salmónidos es influido por varios factores endógenos. Entre éstos la digestibilidad de la astaxantina, su absorción desde el intestino, su transporte en la sangre por las lipoproteínas, su metabolismo y su unión a la fibra muscular. Cada factor puede influir considerablemente en la concentración de astaxantina en la carne y en la visualización del color, y una limitación en cualquiera de estos procesos puede dar lugar a una pigmentación insuficiente de la carne.

La forma de astaxantina utilizada, es decir el compuesto como tal o uno de sus derivados como fuente de astaxantina, y la matriz de materia prima (alimento) en la cual está presente influyen en la digestibilidad del pigmento y su eficacia posterior en la pigmentación de la carne. La digestibilidad de la astaxantina o de uno de sus derivados influye a su vez en la tasa apropiada de inclusión en la dieta y el régimen empleado para la pigmentación de la carne. En efecto, se ha demostrado que la forma y la composición de la dieta afectan a la digestibilidad. Se ha establecido que la alimentación con astaxantina fuera de una formulación no produce casi efecto de pigmentación.

Por otra parte, el coeficiente de digestibilidad aparente de la astaxantina idéntica a la natural, el dipalmitato de astaxantina y la cantaxantina con las que se alimenta a la trucha arco iris, el salmón del Atlántico y la trucha de mar ha demostrado que existen variaciones grandes en la digestibilidad, que fueron relacionadas con la degradación del carotenoide durante la extrusión de los alimentos y/o el almacenamiento de los alimentos, o, después de la alimentación, con la degradación del carotenoide en los intestinos o con la extracción incompleta del carotenoide del contenido de los intestinos.

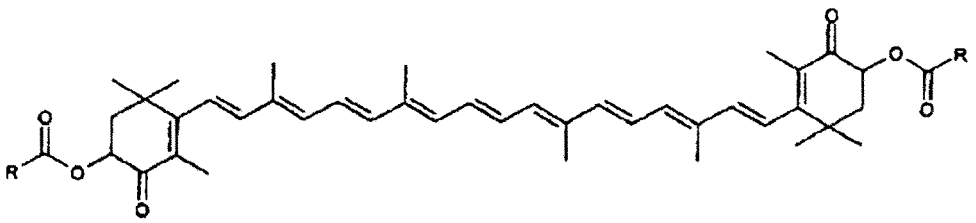
Con relación a la destrucción (degradación) de la astaxantina durante la extrusión de los alimentos, se estableció que las temperaturas elevadas a las cuales ocurre dicho procesamiento contribuyen significativamente a ésta, en tanto que la degradación durante el almacenamiento es influida principalmente por la exposición al oxígeno del aire.

En estas circunstancias existe la necesidad de producir nuevos derivados de astaxantina con una mejor estabilidad durante la extrusión a las temperaturas elevadas requeridas en la fabricación de alimentos y durante el almacenamiento de los alimentos preparados, eliminando así la pérdida excesiva de la sustancia activa durante la extrusión y el almacenamiento. Además, el uso de un derivado de astaxantina más estable como un pigmento en acuicultura, podría reducir considerablemente o incluso eliminar la calidad variable del color que resulta del uso de astaxantina o de uno de sus derivados de naturaleza menos estable, como se observó a menudo en el pasado, por ejemplo en la carne del salmón y la trucha. Además, un pigmento más estable permitiría al fabricante de alimentos para peces o crustáceos mayores posibilidades de variación de las condiciones de procesamiento durante la fabricación de alimentos y también de las condiciones ambientales durante el almacenamiento de los alimentos para peces acopiados, que lo que era posible antes con la astaxantina o con los derivados que se usaban antes. Las ventajas indicadas precedentemente que se pueden lograr con nuevos derivados de astaxantina se basarían significativamente en la experiencia insatisfactoria anterior con astaxantina. Así es que se observó en el pasado que 10 a 20% del pigmento se pierde por degradación durante la extrusión a temperaturas elevadas, y que durante el almacenamiento de los alimentos preparados se pierde, por semana, aproximadamente 2% del pigmento contenido a través de la degradación en condiciones ambientales.

"Absolute configurational assignment of 3-hydroxycarotenoids" (Andersson *et al*., J. Chem. Soc., Perkin Trans.1, vol. 15, pp. 2.409-2.414, 2000) y WO 00/62625 divulgan derivados carotenoides. Por ejemplo WO 00/62625 divulga

diésteres de astaxantina como pigmentos en alimentos para peces, pero estos ésteres son completamente diferentes de los de la invención que se describe de aquí en adelante.

En consecuencia, la presente invención proporciona nuevos derivados de astaxantina de fórmula general I.



I

donde

R es en cada caso un grupo (a), (b) o (c)

-NH-CH-(R^1)-$COOR^2$ (a)

-OR^3 (b)

-$(Y)_n$-Z (c)

R^1 significa hidrógeno o el residuo de un aminoácido formador de proteína,

R^2 significa C_{1-6}-alquilo o C_{3-8}-cicloalquilo,

R^3 significa C_{1-12}-alquilo o C_{3-8}-cicloalquilo,

n significa cero o 1,

Y significa C_{1-7}-alquileno o C_{2-7}-alquenileno,

y Z, cuando n es cero, significa C_{3-8}-cicloalquilo, un grupo -$CH(C_6H_5)OR^4$, un grupo -COR^5 o un grupo -$CH_2N^+(CH_3)_3Hal^-$,

o Z, cuando n es 1, significa amino, un grupo -O-COR^6, un grupo -OR^7 o un grupo -SR^8,

o Z, independientemente de si n es cero o 1, significa alternativamente arilo, heteroarilo, un grupo -$COOR^5$ o un grupo -$CH(CH_3)OR^4$,

R^4 significa hidrógeno o acetilo,

R^5 significa hidrógeno o C_{1-6}-alquilo,

R^6 significa C_{1-6}-alquilo, arilo o heteroarilo,

R^7 significa hidrógeno, C_{1-6}-alquilo o acetilo,

R^8 significa C_{1-6}-alquilo, y

Hal^- significa un ión halógeno.

En la definición anterior de los derivados de astaxantina de fórmula I cualquier grupo alquilo o alquenilo que contenga tres o más átomos de carbono puede ser de cadena lineal o ramificada. Esto también se aplica al grupo C_{1-7}-alquileno o C_{2-7}-alquenileno (divalente) representado por Y; por lo tanto el grupo alquileno puede ser por ejemplo metileno o di, tri, tetra, penta, hexa o heptametileno, o, respectivamente, etilideno, propilideno (etilmetileno), etileno sustituido con metilo en la posición 1- o 2- u otros grupos alquileno mono o multi-ramificados que contengan en total hasta siete átomos de carbono. Además en cuanto al grupo C_{2-7}-alquenileno de cadena lineal o ramificada, se comprende que abarca los grupos alquenileno con uno o (a partir de C_4) más dobles enlaces; ejemplos de tales grupos alquenileno son los de las fórmulas -CH=CH-, -CH=CH-CH_2-, -CH=CH-$(CH_2)_3$- y -$(CH=CH)_2$-.

Cualquier grupo arilo (un significado de Z o de R^6 en el grupo -O-COR^6 representado por Z cuando n es 1) puede ser un fenilo, naftilo, u otro grupo hidrocarburo aromático multianillo sin sustituir, o uno de esos grupos provisto de

uno o más sustituyentes, particularmente esos sustituyentes se seleccionan entre C_{1-4}-alquilo, C_{1-4}-alcoxi, halógeno y benciloxi. Halógeno indica flúor, cloro, bromo o yodo. Algunos ejemplos de grupos fenilo sustituidos son p-tolilo, 3-metoxifenilo, 4-metoxifenilo, 2,5-dimetoxifenilo, 3,4-dimetoxifenilo y 4-benciloxifenilo.

La expresión "heteroarilo", también un significado de Z o de R^6 en el grupo -O-COR^6, quiere decir un grupo heterocíclico de carácter aromático provisto de, como miembro(s) del anillo, uno o más heteroátomos seleccionados entre oxígeno, azufre y nitrógeno. Algunos ejemplos de tales grupos heteroarilo son 2- o 3-furilo, 2- o 3-tienilo y 4-piridilo. Como en el caso de los grupos arilo, los grupos heteroarilo pueden estar sin sustituir o estar sustituidos con uno o más sustituyentes como los indicados precedentemente para los grupos arilo sustituidos.

Con relación a la expresión "residuo de un aminoácido formador de proteína" (el significado de R^1 cuando no significa hidrógeno), esto quiere decir que el grupo (a) pertinente en el cual R^1 tiene este significado deriva de cualquier aminoácido H_2N-CH(R^1)-COOH, donde R^1 significa la parte variable de la molécula del aminoácido. Se proporcionan muchos ejemplos de aminoácidos en, entre otras referencias bibliográficas, Organische Chemie, "Von den Grundlagen zur Forschung", Vol.1, Ed. Salle + Sauerländer, páginas 302-304 (Frankfurt 1988), el contenido del cual se incorpora aquí apropiadamente. Cuando el aminoácido es el miembro más simple, la glicina, el grupo (a) significa -NH-CH_2-$COOR^2$, donde R^1 es hidrógeno (y R^2 es cualquier grupo C_{1-6}-alquilo o C_{3-8}-cicloalquilo). En el caso de la fenilalanina y la metionina, el grupo (a) y R^1 significan -NH-CH(C_6H_5)-$COOR^2$ y fenilo (C_6H_5), y -NH-CH($CH_2CH_2SCH_3$)-$COOR^2$ y 2-metiltioetilo ($CH_2CH_2SCH_3$), respectivamente. Otros ejemplos del grupo (a) y el "residuo de un aminoácido formador de proteína" (significado de R^1) no requerirán elucidación específica.

Finalmente el ion halógeno Hal^- puede ser un ión fluoruro, cloruro, bromuro o yoduro, preferentemente un ion cloruro, Cl^-.

Los derivados de astaxantina de fórmula I pueden estar en cualquiera forma isomérica posible o en forma de mezclas de isómeros, por ejemplo, las mezclas racémicas.

Ejemplos de derivados específicos de astaxantina de fórmula I (con el significado apropiado de R) y por lo tanto de acuerdo con la presente invención, son:

dietildicarbonato de astaxantina (R es etoxi),

dietildioxalato de astaxantina (R es etoxicarbonilo),

di(N-acetilglicinato) de astaxantina (R es acetilaminometilo),

dimaleinato de astaxantina (R es -CH=CH-COOH),

disuccinato de astaxantina (R es -CH_2-CH_2-COOH),

dimetildisuccinato de astaxantina (R es -CH_2-CH_2-$COOCH_3$),

dietildisuccinato de astaxantina (R es -CH_2-CH_2-$COOC_2H_5$),

dietildiglicinadicarbamato de astaxantina (R es -NH-CH_2-$COOC_2H_5$),

dinicotinato de astaxantina (R es 3-piridilo),

dimetioninadicarbamato de astaxantina (R es -NHCH($CH_2CH_2SCH_3$)$COOC_2H_5$),

diacetildiglicolato de astaxantina (R es acetiloximetilo),

difenilalaninadicarbarmato de astaxantina (R es -NHCH($CH_2C_6H_5$)$COOC_2H_5$),

dietildifumarato de astaxantina-(R es -CH=CH-$COOC_2H_5$),

di(2-furoato) de astaxantina (R es 2-furilo),

dimetildimalonato de astaxantina (R es -CH_2-$COOCH_3$),

di(3-metiltiopropionato) de astaxantina (R es 3-metiltioetilo),

dimetoxiacetato de astaxantina (R es metoximetilo),

di-[(2-tienil)acetato] de astaxantina [R es (2-tienil)metilo],

dilactato de astaxantina (R es 1-hidroxietilo),

di(acetilmandelato) de astaxantina (R es α-acetiloxibencilo) y

dibetainato de astaxantina [R es $-CH_2N^+(CH_3)_3Cl^-$].

Cada uno de los derivados de astaxantina mencionados antes está preferentemente en la forma isomérica (todos-E)-3,3'-rac.

Los seis derivados de astaxantina, dietildicarbonato, dimetildisuccinato, dietildisuccinato, dinicotinato, dimetoxiacetato y di-[(2-tienil)-acetato] de astaxantina son los que se prefieren especialmente en vista de su estabilidad y propiedades de pigmentación.

Los derivados de astaxantina de la presente invención se pueden fabricar en principio de acuerdo con los métodos de síntesis conocidos en sí para las esterificaciones o amidaciones, según la naturaleza del grupo R, mediante el cual la astaxantina se hace reaccionar con el ácido RCOOH pertinente como tal o como su cloruro de ácido RCOCl o anhídrido de ácido $(RCO)_2O$, o, en los casos en que R significa un grupo (a), con el éster del N-carbonil-aminoácido apropiado de fórmula $OCNCH(R^1)COOR^2$. Estos procesos para producir los derivados de astaxantina de fórmula I representan otro aspecto de la presente invención.

En caso de esterificación con un cloruro de ácido o anhídrido de ácido, la reacción se lleva a cabo en general en un disolvente inerte y en presencia de una base orgánica. Como disolvente (que puede en vez actuar como un medio de dispersión cuando se trata de una suspensión en lugar de una disolución) se usa convenientemente un hidrocarburo halogenado inferior, por ejemplo, cloruro de metileno o cloroformo; un éter alifático o cíclico inferior, por ejemplo, éter dietílico o tetrahidrofurano o dioxano, respectivamente; un hidrocarburo aromático, por ejemplo, tolueno; o una cetona alifática inferior, por ejemplo, acetona. La base es adecuadamente una trialquilamina inferior, por ejemplo, trietilamina; piridina; o una di(alquilo inferior)aminopiridina, por ejemplo, dimetilaminopiridina. La relación molar entre astaxantina: cloruro de ácido o anhídrido de ácido: base está convenientemente en el rango de 1:2-6:2-10. Por otra parte, la esterificación se lleva a cabo, en general, en el rango de temperaturas de -10ºC a +100ºC, preferentemente de 25ºC a 60ºC y muy preferentemente de 25ºC a 40ºC. En dichas condiciones la esterificación se completa, en general, entre 1 y 24 horas, generalmente entre 2 y 6 horas, desde el comienzo de la reacción. Se encontró que es ventajoso realizar la esterificación en atmósfera inerte, usando preferentemente nitrógeno o argón como gas inerte. Además, se encontró que cuando se emplea la base trietilamina (generalmente la preferida), es ventajoso en el caso de reacciones particularmente lentas incrementar dicha base con hasta un 20% de su cantidad molar de 4-dimetilaminopiridina.

Cuando se usa el ácido mismo para esterificar la astaxantina, las condiciones son en general similares a las empleadas para las esterificaciones con un cloruro o anhídrido de ácido con respecto a las temperaturas de reacción del disolvente/medio de dispersión. Sin embargo, en el presente caso en general se emplea un deshidratante en vez de una base. Un deshidratante particularmente adecuado es diciclohexilcarbodiimida. La relación molar entre astaxantina: ácido carboxílico: deshidratante está convenientemente en el rango de 1:2-6:2-7. Las esterificaciones que usan el ácido carboxílico apropiado se completan en general entre unos pocos minutos y hasta 8 horas.

Finalmente, la producción de los derivados de astaxantina de fórmula I donde R significa un grupo (a), usando el éster del N-carbonil-aminoácido mencionado precedentemente como uno de los materiales de partida, se puede realizar asimismo usando los tipos de disolventes/medios de dispersión indicados antes para los otros dos casos y las temperaturas de reacción son también generalmente similares, vale decir, generalmente en el rango de -10ºC a +120ºC, preferentemente de 25ºC a 60ºC y muy preferentemente de 25ºC a 40ºC. En este caso, sin embargo, se puede usar como una alternativa al tipo de base utilizada para la esterificación con un cloruro o anhídrido de ácido un ácido de Lewis, por ejemplo, eterato de trifluoruro de boro o una sal de estaño o cinc, como el cloruro respectivo. La relación molar entre astaxantina:éster de N-carbonil-aminoácido es convenientemente 1:2-4, preferentemente 1:2,2-2,4. En caso de usar una base, particularmente trietilamina o 4-dimetilaminopiridina, la cantidad de dicho catalizador básico en relación con la cantidad de material de partida de astaxantina, expresada en equivalentes (basada en 1 equivalente de astaxantina) está en general en el rango de 0,5 a 10,0 (trietilamina) o de 0,1 a 10,0 (4-dimetilaminopiridina). Cuando se usa un ácido de Lewis, en particular el dicloruro de cinc, en vez de un catalizador básico, la cantidad de dicho ácido de Lewis en relación con la cantidad de astaxantina (1 equivalente) está en general en el rango de 0,05 a 0,5, preferentemente en el rango de 0,1 a 0,2 equivalentes. En tales condiciones, la reacción de este caso se completa en general después de un período mucho más largo, habitualmente de hasta 72 horas. Sin embargo, utilizando, por ejemplo, dicloruro de cinc como ácido de Lewis, la reacción se completa generalmente en un período tan corto como de 1 a 3 horas.

En todos estos casos el producto, es decir el derivado de astaxantina de fórmula I, se puede aislar y purificar mediante métodos conocidos, por ejemplo, agregando un disolvente como metanol para inducir la separación del producto crudo de la mezcla después de la reacción y la cristalización del producto crudo recogido.

Los ácidos RCOOH, cloruros de ácido RCOCl, anhídridos de ácido $(RCO)_2O$ y ésteres de N-carbonil-aminoácido de fórmula $OCNCH(R^1)COOR^2$ pertinentes, utilizados como materiales de partida en los procesos descritos precedentemente para producir derivados de astaxantina de fórmula I son o bien compuestos conocidos o que se pueden producir fácilmente mediante procesos análogos a los procesos para producir los materiales de partida relacionados conocidos.

Según se indica anteriormente, los derivados de astaxantina de la presente invención son útiles como pigmentos en acuicultura, especialmente para los alimentos de los animales acuáticos y son en consecuencia útiles como alimento o como un agente de pigmentación en dichos alimentos.

Los animales acuáticos comprendidos por el significado de la presente invención son peces, en particular marinos, de agua dulce, peces de aleta anádromos y catádromos y especies de crustáceos. Los peces preferidos para los cuales los alimentos para animales acuáticos mencionados antes son muy aplicables son el besugo, la limanda cola amarilla, la trucha, el salmón, la tilapia, el bagre y la carpa dorada. Los salmones y las truchas del Atlántico y el Pacífico se prefieren especialmente. Los crustáceos preferidos son los langostinos, los camarones y los cangrejos de río. Para la realización de su uso como agentes de pigmentación en alimentos para animales acuáticos, los derivados de astaxantina se pueden incorporar en los alimentos por métodos conocidos por los expertos en el procesamiento y la formulación de dichos alimentos, en principio mediante mezcla con al menos alguno de los componentes del alimento final en una etapa apropiada de la fabricación. Los ésteres de astaxantina se incorporan normalmente como una formulación, en particular una formulación que se puede dispersar en agua. Dicha formulación se puede producir en principio disolviendo primero el derivado de astaxantina en aceite o grasa de una planta o vegetal, por ejemplo, aceite de maíz, o en un disolvente orgánico, por ejemplo, un alcohol, un éter alifático, un hidrocarburo alifático halogenado como cloruro de metileno, o un éster alifático, o en una mezcla de aceite o grasa de una planta o vegetal y un disolvente orgánico. La disolución se puede efectuar en un amplio rango de temperaturas, por ejemplo, en el rango entre temperatura ambiente y 150ºC. En caso de usar cloruro de metileno como el disolvente orgánico para la disolución, ésta se puede efectuar a temperatura ambiente o a temperaturas hasta 30ºC, o a temperaturas superiores cuando se aplica presión elevada. El uso de temperaturas relativamente bajas cuando se usa cloruro de metileno o un disolvente alternativo es particularmente ventajoso para evitar someter al derivado de astaxantina a temperaturas de disolución innecesariamente altas, y de este modo representa un proceso económico y suave. Por otra parte, el cloruro de metileno, en particular, disuelve los derivados de astaxantina tan fácilmente que se ahorra aún más a través del uso de volúmenes relativamente pequeños de este disolvente; como un resultado de esto, menos disolvente necesita ser retirado por evaporación y luego eliminado o reciclado, y como otro resultado, el procesamiento de volúmenes menores de solución se puede efectuar más rápidamente. Después de completar la disolución normalmente la solución se emulsiona con una solución acuosa de un coloide protector, por ejemplo, una proteína de origen vegetal o animal como una gelatina, en particular la gelatina de pescado; un carbohidrato; un polisacárido; o un ligninsulfonato. Luego el disolvente y el agua se eliminan al menos parcialmente, proporcionando así la formulación como una emulsión concentrada. Antes de la incorporación real en los alimentos la emulsión concentrada puede ser o bien deshidratada por aspersión directamente por técnicas convencionales de deshidratación por aspersión o deshidratada por aspersión en almidón fluidizado o un excipiente alternativo, por ejemplo, silicato de calcio, de nuevo, por técnicas convencionales. El producto de dicha deshidratación por aspersión consiste en gránulos, que, aparte del derivado de astaxantina contienen componentes del proceso anterior, por ejemplo, aceite, coloide protector, almidón etc. y pueden contener hasta aproximadamente 25% en peso de dicho derivado; el contenido de cualquier aceite presente está en general en el rango de 0,5% a 50% en peso, el contenido de material de la matriz (principalmente coloide protector) en general en el rango de 50% a aproximadamente 80% en peso y el contenido de cualquier excipiente proveniente de la deshidratación por aspersión (almidón, silicato de calcio, etc.) generalmente de 10% a 25% en peso. Aparte de los materiales ya mencionados, los gránulos pueden contener cantidades relativamente menores de estabilizantes, emulsionantes y otros auxiliares de la formulación convencionales. Convencionalmente, la preparación se mezcla luego con otros componentes de los alimentos, como aceite de pescado y harina de pescado y la mezcla se somete a un proceso hidrotérmico, por ejemplo, prensado en pastillas o extrusión, con aplicación de cizallamiento elevado, para producir alimentos para animales acuáticos, complementados con el derivado de astaxantina, en forma de pastillas. Durante dicho procesamiento (prensado en pastillas y extrusión) se pueden alcanzar temperaturas en el rango de 70 a 150ºC, especialmente de 90 a 130ºC y presiones en el rango de 10 a 100 bar, especialmente de 20 a 40 bar. En consecuencia, es importante que el pigmento incorporado, en este caso el derivado de astaxantina de fórmula I, sea capaz de admitir temperaturas y presiones tan altas sin una degradación excesiva. El contenido de este agente de pigmentación en un alimento para peces preparado de este modo en general está en el rango de 30 a 100 ppm.

Se puede encontrar más información sobre formulación y procesamiento de alimentos para peces, por ejemplo, en American Feed Industry Ass., Feed Manufacturing Technology IV, 1994, pp. 509 - 515.

Como una alternativa a tener que someter forzadamente el derivado de astaxantina incorporado a las severas condiciones de temperatura y presión involucradas en un proceso hidrotérmico como el descrito antes, la formulación a incorporar se puede diluir en agua y luego agregar y mezclar con los alimentos para animales acuáticos después de que dichos alimentos hayan sido sometidos al proceso hidrotérmico.

Otros aspectos de la presente invención son, las formulaciones que contienen derivados de astaxantina de la presente invención para incorporar en alimentos para animales acuáticos y dichos alimentos que contienen una cantidad eficaz del derivado de astaxantina como un agente de pigmentación, en particular un alimento para animales acuáticos que contiene de 30 a 100 ppm de uno de dichos derivados de astaxantina.

La invención se ilustra mediante los ejemplos siguientes de la preparación de los derivados de astaxantina de fórmula I.

Ejemplo 1

Di(L-lactato) de (todos-E)-3,3'-rac-astaxantina

Se diluyeron 212 g de ácido láctico y 0,84 g de ácido p-toluensulfónico en 2,3 kg de cloruro de metileno a 4ºC. Después se agregaron 260,3 g de dihidropirano en el transcurso de 38 minutos. Después de agitar la mezcla durante otros 10 minutos la temperatura se aumentó a 20ºC y se continuó agitando durante otras 1,5 horas. Posteriormente la solución se lavó con tres porciones de 900 ml de solución acuosa de hidróxido de potasio 0,2 M. Se retiró la fase acuosa básica y la fase orgánica se lavó con dos porciones de 350 ml de agua. La fase acuosa se lavó con cloruro de metileno. Después las fases orgánicas se combinaron y se secaron con sulfato de sodio anhidro. El disolvente se evaporó hasta que quedó una fase oleosa, que consistía en ácido tetrahidropiranil-láctico.

Se agregaron 73,26 g de ácido tetrahidropiranil-láctico, 47,22 g de diciclohexilcarbodiimida y 0,84 g de 4-dimetilaminopiridina a una solución en agitación de 9,2 g de astaxantina en 1782,4 g de tetrahidrofurano, a 25ºC en condiciones inertes y de sequedad. Después de agitar durante 16 horas, la diciclohexilurea precipitada se eliminó por filtración. El disolvente de la solución remanente se destiló a presión reducida. El residuo se disolvió luego en 615,8 g de cloruro de metileno y se agregó la solución a 750 ml de una solución 2 molar de ácido sulfúrico que ya se había calentado a 27ºC. Después de haber sido agitada durante 1,5 horas, la fase orgánica de la mezcla de dos fases se separó. La fase acuosa se extrajo con dos porciones de 75 ml de cloruro de metileno y las fases orgánicas combinadas se secaron con 95,83 g de sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se evaporaron a sequedad.

El residuo se diluyó con 385,9 g de piridina a 22ºC y se agregaron 210 g de agua en el transcurso de 7 minutos. La temperatura subió a 32ºC. Después de agregar otros 298,9 g de agua, precipitaron cristales violetas. Después de haber sido agitados durante 2 horas, los cristales se filtraron y se secaron a presión reducida durante 16 horas.

Los cristales se diluyeron con 291 g de cloruro de metileno y la solución se agregó a una solución acuosa de ácido sulfúrico 7,9 molar ya se había calentado a 27ºC. Después de agitar durante 1,5 horas se agregaron 350 ml de agua y la fase orgánica se separó. La fase orgánica se lavó con dos porciones de 200 ml de agua. Las fases acuosas se lavaron con 200 ml de cloruro de metileno y las fases orgánicas se combinaron. Después la fase orgánica combinada se secó con 104,8 g de sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó a sequedad.

Los cristales resultantes se diluyeron en 228 g de tolueno a temperatura ambiente. Después de la adición de 35,2 g de hexano y 10 minutos de agitación precipitaron cristales rojos. Después se agregó una segunda porción de 14 g de hexano, y la suspensión se agitó, se filtró, se lavó con 22 g de hexano y se secó a presión altamente reducida durante 16 horas.

Los cristales se diluyeron con 246 g de cloruro de metileno, se agregaron 276 g de hexano en seis porciones hasta que precipitaron cristales rojos. Después de filtrar y secar se obtuvieron 6 g de di(L-lactato) de (todos-E)-3,3'-rac-astaxantina, (% de área por HPLC: 95%).

Ejemplo 2

Dietildioxalato de (todos-E)-3,3'-rac-astaxantina

Se agregaron 56 ml de trietilamina y 4,99 g de 4-dimetilaminopiridina a una suspensión acuosa espesa en agitación de 47,75 g de astaxantina en 1,6 l de cloruro de metileno, a 25ºC en condiciones inertes y de sequedad, 30 minutos después de la adición gota a gota de 45,9 ml de cloruro del éster etílico del ácido oxálico a 25ºC la reacción se completó. El exceso de cloruro de ácido se destruyó agregando metanol. Después de la neutralización con 12 ml de ácido acético la mezcla de reacción se evaporó a sequedad. El residuo se disolvió en 1 l de cloruro de metileno, se extrajo con tres porciones de 500 ml de agua y la fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro. El producto se precipitó de la solución seca por adición de 1 l de metanol. Después de filtrar, lavar con metanol y secar se obtuvieron 53,2 g (rendimiento del 83,4%) de dietildioxalato de (todos-E)-3,3'-rac-astaxantina como cristales de color rojo oscuro (% de área por HPLC: 98,1%).

Ejemplo 3

Dietildicarbonato de (todos-E)-3,3'-rac-astaxantina

Se agregaron 105 ml de trietilamina y 9,35 g de 4-dimetilaminopiridina a la temperatura de reflujo a una solución en agitación de 29,84 g de astaxantina en 1 l de cloruro de metileno, en condiciones inertes y de sequedad. Se introdujeron a intervalos de 15 minutos 24,31 ml de cloroformiato de etilo en seis porciones iguales. Después de un total de 2,5 horas, la mezcla de reacción se enfrió a 25ºC y el cloruro de ácido en exceso se destruyó por adición de metanol. Después de la evaporación a sequedad, el residuo se disolvió en 500 ml de cloruro de metileno y se extrajo tres veces con agua y la fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro. El producto se precipitó de un volumen reducido de 250 ml por adición de 100 ml de metanol. Después de filtrar, lavar con metanol y secar se obtuvieron 33,69 g (rendimiento del 90,9%) de dietildicarbonato de (todos-E)-3,3'-rac-astaxantina como cristales de color rojo oscuro (% de área por HPLC: 89,8%).

Ejemplo 4

Di(N-acetilglicinato) de (todos-E)-3,3'-rac-astaxantina

Se mezclaron 4,73 g de N-acetilglicina, 5,97 g de astaxantina, 249 mg de 4-dimetilaminopiridina y 40 ml de cloruro de metileno, en condiciones inertes y de sequedad. Se agregó con agitación a 25ºC una solución de N,N-diciclohexilcarbodiimida en 40 ml de cloruro de metileno. Después de 17 horas se reemplazó el cloruro de metileno por cloroformo (se destilaron 105 ml de mezcla disolvente). Después la suspensión caliente resultante de cristales (temperatura interna 60ºC) se filtró y los cristales (diciclohexilurea) se lavaron con una cantidad total de 100 ml de cloroformo. El filtrado se concentró hasta un volumen de 75 g, y el producto cristalizó por adición de 150 ml de metanol. Después de lavar y secar se obtuvieron 6,34 g (rendimiento del 79,7%) de di(N-acetilglicinato) de (todos-E)-3,3'-rac-astaxantina (% de área por HPLC: 95,5%).

Ejemplo 5

Dimetildisuccinato de (todos-E)-3,3'-rac-astaxantina

Se agregaron a la temperatura de reflujo 17,5 ml de trietilamina y 1,56 g de 4-dimetilaminopiridina a una solución en agitación de 14,92 g de astaxantina en 500 ml de tetrahidrofurano, en condiciones inertes y de sequedad. Durante un período de 70 minutos se introdujeron continuamente 11,0 ml de cloruro de metilsuccinoilo. Después de otra hora, la mezcla de reacción se enfrió a 25ºC, y se agregaron 125 ml de metanol para destruir el exceso de cloruro de ácido. Después de la extracción con cloruro de metileno/agua (1:1) y cromatografía sobre gel de sílice con el eluyente tolueno/n-hexano/acetato de etilo en la relación 2:2:1 se aisló el producto por cristalización de metanol. Después de secar se obtuvieron 10,29 g (rendimiento del 49,9%) de dimetildisuccinato de (todos-E)-3,3'-rac-astaxantina como cristales de color rojo oscuro (% de área por HPLC: 79,3%). Después de la recristalización de cloruro de metileno/metanol se obtuvo un producto de 98% de pureza por HPLC.

Ejemplo 6

Dietilglicinacarbamato de (todos-E)-3,3'-rac-astaxantina

Se mezclaron con agitación 1,19 g de astaxantina, 0,55 ml de isocianoacetato de etilo y 56 mg de dicloruro de cinc en 10 ml de cloruro de metileno a 25ºC hasta obtener una suspensión acuosa espesa, en condiciones inertes y de sequedad. Después de una hora la reacción se completó. El producto se cristalizó por adición de 25 ml de acetona. Los cristales violeta resultantes se aislaron por filtración. Después de lavar con acetona/cloruro de metileno en la relación 5:2 y secar, se obtuvieron 1,59 g rendimiento del 91,8%) de dietilglicinacarbamato de (todos-E)-3,3'-rac-astaxantina (% de área por HPLC%: 98,4%).

Ejemplo 7

Diacetildiglicolato de (todos-E)-3,3'-rac-astaxantina

Se mezclaron con agitación 30,44 g de astaxantina, 24,33 g de ácido acetilglicólico y 1,27 g de 4-dimetilaminopiridina en 200 ml de cloruro de metileno hasta obtener una suspensión acuosa espesa, a 25ºC en condiciones inertes y de sequedad. En el transcurso de 10 minutos se agregó una solución de 46,77 g de N,N-diciclohexilcarbodiimida en 200 ml de cloruro de metileno, causando una reacción exotérmica. Después de una hora la reacción se completó. Se filtró la diciclohexilurea, se concentró el filtrado y el producto cristalizó por adición de metanol. Después de filtrar y secar, se aislaron 38,96 g (rendimiento del 95,8%) de diacetilglicolato de (todos-E)-3,3'-rac-astaxantina como cristales de color rojo oscuro (% de área por HPLC: 95,8%).

Ejemplo 8

Dietildisuccinato de astaxantina

En condiciones inertes y de sequedad, se agregaron con agitación a 25ºC 2,98 g de astaxantina y 1,0 ml de piridina a 25 ml de cloruro de metileno. Después se agregaron 1,8 ml de cloruro de etilsuccinoilo en el transcurso de 15 minutos a la suspensión en agitación a 25ºC. Después de 3 horas se completó la esterificación y se reemplazó el cloruro de metileno disolvente por metanol mediante destilación azeotrópica. Se agregaron 5 ml de agua a la suspensión cristalina remanente en aproximadamente 50 ml de metanol. La suspensión se calentó a ebullición durante 1 hora a la temperatura de reflujo (promoviendo isomerización Z,E). Después de enfriar a 25ºC, los cristales se filtraron, se lavaron con 20 ml de metanol y se secaron. Se obtuvieron 3,66 g (rendimiento del 85,9%) de dietildisuccinato de astaxantina crudo como cristales de color violeta oscuro (% de área por HPLC: 91,8% todos-E, 5,0% de isómeros Z).

Ejemplo 9

Dimaleinato de astaxantina

En condiciones inertes y de sequedad se agregó una solución de 17 g de trietilamina en 20 ml de cloruro de metileno a una suspensión en agitación de 10 g de anhídrido maleico y 20 g de astaxantina en 300 ml de cloruro de metileno a 25ºC. Después de 90 minutos la reacción se completó y la solución resultante se extrajo sucesivamente con 250 ml de ácido clorhídrico 3 N y solución saturada de cloruro de sodio. El producto final se precipitó por adición de suficiente n-hexano. Después de filtrar, lavar con n-hexano y secar, se obtuvieron 27 g (casi 100% de rendimiento) de dimaleinato de astaxantina puro como cristales de color rojo oscuro (% de área por HPLC: aproximadamente 97,7% de todos-E).

Ejemplo 10

Disuccinato de astaxantina

En condiciones inertes y de sequedad, se suspendieron 59,69 g de astaxantina, 25,27 g de anhídrido succínico, 70,04 ml de trietilamina y 3,12 g de 4-dimetilaminopiridina (DMAP) en 500 ml de cloruro de metileno a 25ºC. Después de agitar durante aproximadamente 16 horas se completó la conversión de astaxantina a su diéster. La solución resultante se acidificó con 500 ml de ácido clorhídrico 1 N y se extrajo con 420 ml de cloruro de metileno. La capa orgánica se neutralizó por lavado con 750 ml de agua, se secó sobre sulfato de sodio anhidro y luego se concentró por evaporación. El producto se cristalizó por adición de suficiente n-hexano al residuo viscoso. Después de filtrar, lavar con n-hexano y secar, se obtuvieron 79,06 g (rendimiento del 99,2%) de disuccinato de astaxantina puro como cristales de color rojo oscuro (% de área por HPLC: 97,4% todos-E).

Ejemplo 11

Dinicotinato de astaxantina

En condiciones inertes y de sequedad se agregaron en porciones 28,05 g de clorhidrato de cloruro de nicotinoilo a una suspensión acuosa espesa de 35,81 g de astaxantina, 65,9 ml de trietilamina y 5,83 g de 4-dimetilaminopiridina en 300 ml de cloruro de metileno a una temperatura apenas por encima de 25ºC. Después de un total de 5 horas en agitación entre 25ºC y 30ºC, la trietilamina se neutralizó por adición de 26,8 ml de ácido acético. La mezcla de reacción se extrajo luego con tres porciones de 400 ml de agua y la capa orgánica se lavó contracorriente con dos porciones de 200 ml de cloruro de metileno. Después de concentrar la capa orgánica recogida hasta un peso de 240 g, se promovió la cristalización del producto por adición de 480 ml de metanol. La suspensión se agitó durante aproximadamente 16 horas a 25ºC para completar la precipitación de los cristales. Después de filtrar, lavar con dos porciones de 30 ml de metanol y secar, se obtuvieron 53,02 g de cristales crudos de color gris oscuro. Los cristales crudos se purificaron de cloruro de metileno/metanol para obtener 48,83 g (aproximadamente 100% de rendimiento) de dinicotinato de astaxantina puro (% de área por HPLC: 98,9% todos-E; 9% de cloruro de metileno).

Ejemplo 12

Di[R)-O-acetilmandelato] de astaxantina

En condiciones inertes y de sequedad se agregó una solución de 24,8 g de N,N-diciclohexilcarbodiimida en 120 ml de cloruro de metileno durante un período de 30 minutos a una suspensión acuosa espesa en agitación de 25,36 g de astaxantina, 20 g de ácido (R)-O-acetilmandélico y 1,5 g de 4-dimetilaminopiridina en 250 ml de cloruro de metileno a 25ºC. Después de otros 30 minutos de agitación a 25ºC la reacción se completó y la suspensión acuosa espesa cristalina resultante se filtró (después de secar: 23,31 g de N,N-diciclohexilurea). El filtrado se concentró hasta un peso de 250 g y el producto crudo se cristalizó por adición de 750 ml de metanol a 0ºC. Después de agitar otra vez a 0ºC durante 30 minutos, la suspensión se filtró y los cristales se lavaron con dos porciones de 70 ml de metanol/cloruro de metileno (8:2) a 0ºC. Los cristales crudos secos (37,87 g) se purificaron por recristalización de cloruro de metileno/metanol, se obtuvieron 32,09 g (rendimiento del 79,6%) de di[(R)-O-acetilmandelato] de astaxantina puro como cristales rojos (% de área por HPLC: 99,6% todos-E).

Ejemplo 13

Di-[(2-tienil)acetato] de astaxantina

En condiciones inertes y de sequedad se agregó una solución de 42,52 g de N,N-diciclohexilcarbodiimida en 240 ml de cloruro de metileno durante un período de 30 minutos a una suspensión acuosa espesa en agitación de 35,81 g de astaxantina, 26,1 g de ácido (2-tienil)acético y 1,5 g de 4-dimetilaminopiridina en 360 ml de cloruro de metileno a 25ºC. Después de agitar durante 3 horas a 25ºC la reacción se completó y se pudo separar N,N-diciclohexilurea

por filtración. Después de intercambiar el disolvente cloruro de metileno por metanol, filtrar la suspensión resultante, lavar los cristales con metanol y secar, se aislaron 50,73 g de producto cristalino crudo. Los cristales se purificaron disolviéndolos en 200 ml de cloruro de metileno seguido de un intercambio del disolvente por metanol. Se aislaron 46,94 g (rendimiento del 92,6%) de di[(2-tienil)acetato] de astaxantina después de filtrar, lavar con metanol y secar (% de área por HPLC: 99,5% todos-E).

Ejemplo 14

Di(3-metiltiopropionato) de astaxantina

En condiciones inertes y de sequedad se agregó una solución de 42,52 g de N,N-diciclohexilcarbodiimida en 240 ml de cloruro de metileno durante un período de 75 minutos a una suspensión acuosa espesa en agitación de 35,81 g de astaxantina, 21,8 g de ácido 3-metiltiopropiónico y 1,5 g de 4-dimetilaminopiridina en 360 ml de cloruro de metileno a 25ºC. Después de agitar durante 1 hora a 25ºC la reacción se completó y se pudo separar N,N-diciclohexilurea por filtración. Después de intercambiar el disolvente cloruro de metileno por metanol, filtrar la suspensión resultante, lavar los cristales con metanol y secar, se aislaron 47,75 g del producto crudo. Después de purificar de cloruro de metileno/metanol, se obtuvieron 44,98 g (rendimiento del 93,6%) de di(3-metiltiopropionato) de astaxantina puro como cristales de color rojo oscuro (% de área por HPLC: aproximadamente 100% todos-E).

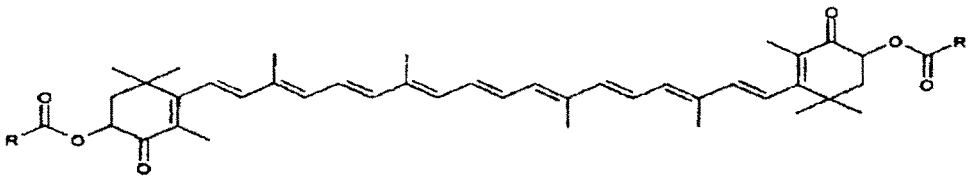
Ejemplo 15

Di(2-furoato) de astaxantina

En condiciones inertes y de sequedad, se agregaron 21,09 ml de cloruro de 2-furoilo durante un período de 30 minutos a una suspensión en agitación de 41,78 g de astaxantina, 29,42 ml de trietilamina y 2,62 g de 4-dimetilaminopiridina en 1,4 l de cloruro de metileno a 25ºC. Después de 2 horas de agitación a 25ºC se completó la reacción. Después se agregaron con cuidado 500 ml de metanol y el cloruro de metileno se destiló y se reemplazó por metanol. La suspensión cristalina resultante se agitó a 25ºC durante aproximadamente 16 horas y después se filtró. Después de lavar con 100 ml de metanol y secar, se obtuvieron 52,76 g (rendimiento del 96,0%) de di(2-furoato) de astaxantina puro (% de área por HPLC: aproximadamente 100%).

REIVINDICACIONES

1. Derivados de astaxantina de fórmula general I



I

donde

R es en cada caso un grupo (a), (b) o (c)

$-NH-CH(R^1)-COOR^2$ (a)

$-OR^3$ (b)

$-(Y)_n-Z$ (c)

R^1 significa hidrógeno o el residuo de un aminoácido formador de proteína,

R^2 significa C_{1-6}-alquilo o C_{3-8}-cicloalquilo,

R^3 significa C_{1-12}-alquilo o C_{3-8}-cicloalquilo,

n significa cero o 1,

Y significa C_{1-7}-alquileno o C_{2-7}-alquenileno,

y Z, cuando n es cero, significa C_{3-8}-cicloalquilo, un grupo $-CH(C_6H_5)OR^4$, un grupo $-COR^5$ o un grupo $-CH_2N^+(CH_3)_3Hal^-$,

o Z, cuando n es 1, significa amino, un grupo $-O-COR^6$, un grupo $-OR^7$ o un grupo $-SR^8$,

o Z, independientemente de si n es cero o 1, significa alternativamente arilo, heteroarilo, un grupo $-COOR^5$ o un grupo $-CH(CH_3)OR^4$,

R^4 significa hidrógeno o acetilo,

R^5 significa hidrógeno o C_{1-6}-alquilo,

R^6 significa C_{1-6}-alquilo, arilo o heteroarilo,

R^7 significa hidrógeno, C_{1-6}-alquilo o acetilo,

R^8 significa C_{1-6}-alquilo, y

Hal^- significa un ión halógeno.

2. Un derivado de astaxantina de acuerdo con la reivindicación 1, que es uno de los derivados de fórmula I siguientes:

dietildicarbonato de astaxantina (R es etoxi),

dietildioxalato de astaxantina (R es etoxicarbonilo),

di(N-acetilglicinato) de astaxantina (R es acetilaminometilo),

dimaleinato de astaxantina (R es -CH=CH-COOH),

disuccinato de astaxantina (R es $-CH_2-CH_2-COOH$),

dimetildisuccinato de astaxantina (R es $-CH_2-CH_2-COOCH_3$),

dietilsuccinato de astaxantina (R es -CH_2-CH_2-$COOC_2H_5$),

dietildiglicinadicarbamato de astaxantina (R es -NH-CH_2-$COOC_2H_5$),

dinicotinato de astaxantina (R es 3-piridilo),

dimetioninadicarbamato de astaxantina (R es -$NHCH(CH_2CH_2SCH_3)COOC_2H_5$),

diacetildiglicolato de astaxantina (R es acetiloximetilo),

difenilalaninadicarbamato de astaxantina (R es -$NHCH(CH_2C_6H_5)COOC_2H_5$),

dietildifumarato de astaxantina (R es -CH=CH-$COOC_2H_5$),

di(2-furoato) de astaxantina (R es 2-furilo),

dimetildimalonato de astaxantina (R es -CH_2-$COOCH_3$),

di(3-metiltiopropionato) de astaxantina (R es 3-metiltioetilo),

dimetoxiacetato de astaxantina (R es metoximetilo),

di-[(2-tienil)acetato] de astaxantina R es (2-tienil)metilo],

dilactato de astaxantina (R es 1-hidroxietilo),

di(acetilmandelato) de astaxantina (R es α-acetiloxibencilo) y

dibetainato de astaxantina [R es -$CH_2N^+(CH_3)_3Cl^-$].

3. Un derivado de astaxantina de acuerdo con la reivindicación 2, donde cada uno está en la forma isomérica (todos-E)-3,3'-rac.

4. Un derivado de astaxantina de acuerdo con la reivindicación 2 o la reivindicación 3, que es uno de los siguientes dietildicarbonato, dimetildisuccinato, dietildisuccinato, dinicotinato, dimetoxiacetato o di-(2-tienil)acetato de astaxantina.

5. Un proceso para producir un derivado de astaxantina según se define o especifica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, que se **caracteriza** por hacer reaccionar la astaxantina con el ácido RCOOH pertinente como tal o como su cloruro de ácido RCOCl o anhídrido de ácido $(RCO)_2O$, o, en los casos en que R significa un grupo (a), con el éster del N-carbonil-aminoácido apropiado de fórmula $OCNCH(R^1)COOR^2$.

6. Una formulación que contiene un carotenoide pigmentante para usar en alimentos para animales acuáticos, que se **caracteriza** por contener como carotenoide un derivado de astaxantina según se define o especifica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.

7. Un proceso para producir una formulación como la que se reivindica en la reivindicación 6, que se **caracteriza** por disolver el derivado de astaxantina en un aceite o grasa de planta o vegetal, o en un disolvente orgánico, o en una mezcla de un aceite o grasa de planta o vegetal y un disolvente orgánico, emulsionar la solución con una solución acuosa de un coloide protector, eliminar al menos parcialmente el disolvente y el agua para obtener una emulsión concentrada y deshidratar por aspersión la emulsión concentrada para producir finalmente una formulación adecuada para incorporar en alimentos para animales acuáticos.

8. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 7, que se **caracteriza** porque el derivado de astaxantina se disuelve en cloruro de metileno como disolvente.

9. Un alimento para animales acuáticos que contiene un carotenoide pigmentante, **caracterizado** por contener como carotenoide un derivado de astaxantina según se definen o especifican en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.

10. Un proceso para producir un alimento para animales acuáticos como el que se reivindica en la reivindicación 9, **caracterizado** por incorporar el derivado de astaxantina como una formulación, en particular una formulación que se puede dispersar en agua, en los alimentos por la mezcla de dicha formulación con al menos alguno de los componentes del alimento final en una etapa apropiada de su fabricación y someter la mezcla que contiene el derivado de astaxantina a un proceso hidrotérmico, produciendo así el alimento complementado con el derivado de astaxantina.

11. El uso de un derivado de astaxantina según se definen o especifican en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 como un carotenoide pigmentante en un alimento para animales acuáticos.