



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 358 367**

51 Int. Cl.:  
**A61K 31/05** (2006.01)  
**A61K 38/17** (2006.01)  
**A61K 38/01** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **07786504 .6**  
96 Fecha de presentación : **02.08.2007**  
97 Número de publicación de la solicitud: **2049091**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **22.04.2009**

54 Título: **Complejos de caseína.**

30 Prioridad: **09.08.2006 EP 06016660**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**10.05.2011**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**10.05.2011**

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

72 Inventor/es: **Chen, Chyi-Cheng**

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

ES 2 358 367 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

Complejos de caseína.

La presente invención se refiere a complejos de caseína. Más exactamente, la presente invención se refiere a complejos que comprenden caseína y resveratrol, a un procedimiento para la fabricación de los mismos, a sus usos y a composiciones que los comprenden. Preferiblemente, complejos que comprenden caseína y resveratrol son complejos de caseína y resveratrol.

El resveratrol que, por su nombre sistemático, es 3,4',5-trihidroxiestilbeno, es un compuesto conocido que se presenta de forma natural que ha ganado mucho interés durante los últimos años a la vista de sus valiosas propiedades biológicas y efectos farmacológicos. Se ha reseñado que resveratrol exhibe muchas cualidades terapéuticas así como preventivas de enfermedades, que incluyen ser la razón de la denominada "Paradoja Francesa". La Paradoja Francesa es el hecho de que en personas que viven de una dieta mediterránea que contiene altos niveles de grasa y alcohol no se observa un aumento esperado de cáncer y enfermedades del corazón. Se han demostrado los efectos de resveratrol en diversos ensayos celulares y en animales, p. ej. con respecto a la inhibición no sólo de tumores de la piel y leucemia, sino también de la agregación de plaquetas y la coagulación. Además, resveratrol ha demostrado ser un vasorrelajante, un agente antimicrobiano y fungicida. Recientemente, se han publicado datos que demuestran que resveratrol es capaz de prolongar la longevidad de ratones alimentados con una dieta con alto contenido en grasa.

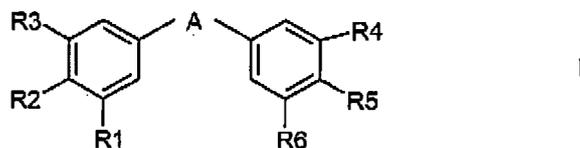
Por lo tanto, resveratrol se está convirtiendo cada vez más en un útil compuesto, no sólo en la prevención y terapia de enfermedades y síndromes específicos, sino también para mejorar, en general, el estado de salud, física, mentalmente y más allá de mamíferos, preferiblemente seres humanos. Esto determina la necesidad de poner a disposición resveratrol en formas estables (físicas, químicas, de color, sabor) y formulaciones que tengan una larga duración de conservación y una solubilidad mejorada, especialmente en medios acuosos que permitirán su amplia aplicación, p. ej. en alimentos, piensos, productos farmacéuticos y cosméticos, especialmente en bebidas.

Resveratrol tiene una solubilidad/dispersabilidad muy baja en agua, lo que hace difícil, si no imposible, preparar soluciones de partida concentradas con una buena estabilidad a lo largo de un período de tiempo prolongado, normalmente utilizado en la industria de las bebidas para la fabricación de disoluciones transparentes finales con concentraciones de aproximadamente 10-20 mg/240 ml de resveratrol.

Es un objeto de la presente invención superar estas dificultades y proporcionar una forma física de resveratrol que permita su amplia aplicación en muchos sectores de la técnica, especialmente en la industria alimentaria y de bebidas. Sorprendentemente, se ha encontrado ahora que estas dificultades se pueden superar utilizando resveratrol en forma de complejos con caseína.

Por lo tanto, el aspecto principal de la presente invención se refiere a complejos de resveratrol con caseína.

El término "resveratrol", tal como se utiliza en esta memoria en su sentido más amplio, comprende el propio resveratrol, en su forma trans así como en su forma cis, y comprende compuestos abarcados por la fórmula general



en donde A significa un enlace sencillo o doble de carbono-carbono, pudiendo estar este último en posición trans o cis, y R1, R2, R3, R4, R5 y R6, independientemente uno de otro, significan hidrógeno, grupos hidroxilo, hidroxilo eterificado o hidroxilo esterificado. Se prefieren compuestos I, en donde A es un doble enlace (-CH=CH-).

Mientras que el doble enlace de carbono-carbono representado por el símbolo A puede estar en posición trans o cis, se entiende que la fórmula I anterior también incluye mezclas cis/trans. Sin embargo, se prefieren compuestos de fórmula I, en donde A es un enlace carbono-carbono en posición trans.

Grupos hidroxilo eterificados o esterificados se pueden derivar de grupos alquilo con 1 a 26 átomos de carbono, de cadena lineal o ramificada, no sustituidos o sustituidos, o de ácidos carboxílicos con 1 a 26 átomos de carbono no sustituidos o sustituidos, de cadena lineal o ramificada, alifáticos, aralifáticos o aromáticos. Grupos hidroxilo eterificados pueden ser, además, grupos glicósido, y grupos hidroxilo esterificados pueden ser, además, grupos glucurónido o sulfato. Ejemplos de compuestos de fórmula I, en donde A es -CH=CH- son resveratrol (R1, R3 y R5 = hidrógeno, R2, R4 y R6 = hidroxilo); piceatanol (R3 y R5 = hidrógeno, R1, R2, R4 y R6 = hidroxilo) y rapontigenina (R5 = hidrógeno, R1, R3, R4 y R6 = hidroxilo y R2 = metoxi). Ejemplos de compuestos de fórmula I, en donde A es -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>- son dihidroresveratrol (R1, R3 y R5 = hidrógeno, R2, R4 y R6 = hidroxilo), dihidropiceatanol (R3 y R5 = hidrógeno; R1, R2, R4 y R6 = hidroxilo) y

tristina (R3 y R5 = hidrógeno; R2, R4 y R6 = hidroxilo y R1 = metoxi). Estos compuestos son todos bien conocidos y están disponibles en el comercio o se pueden obtener de acuerdo con métodos bien conocidos en la técnica.

Para los fines de la invención, resveratrol puede ser de origen natural o sintético. En ambos casos, predomina el isómero trans, en el último caso casi de forma exclusiva.

5 Dihidroresveratrol, piceatanol, dihidropiceatanol y tristina (3-metil-dihidro-piceatanol) son metabolitos de resveratrol.

10 Los componentes de resveratrol de la presente invención se pueden preparar de modo sintético o semisintético utilizando una síntesis química clásica o procedimientos microbiológicos que incluyen ingeniería genética y transformantes, o pueden ser de origen natural, lo que significa que se obtienen de fuentes naturales, p. ej., pepitas de uvas, cacahuets o extracto de sanguinaria (*Polygonum aviculare*), en forma más o menos concentrada y purificada. Además, resveratrol se puede utilizar como un compuesto activo único o como una mezcla de dos o más compuestos según se define aquí anteriormente.

15 El término "caseína", tal como se utiliza en esta memoria, se refiere a todos los miembros de las fracciones de las proteínas de la leche designados caseínas, conocidos por una persona experta en la técnica, que comprenden, alfa-, beta-, gamma-, kappa- y lambda-caseínas como sub-grupos, tomadas individualmente o en forma de mezclas que se presentan de forma natural o preparadas sintéticamente de los mismos. Dentro de estos sub-grupos existe una multitud de variaciones genéticas dependiendo del tipo y raza de animal como fuente de la leche. En relación con la presente invención, como fuente de caseína se puede utilizar leche de cualquier tipo de mamífero, incluidos los seres humanos. La fuente principal es la leche de vaca. Las proteínas caseína, aparte de distinguirse por sus secuencias de aminoácidos y su tendencia para formar dímeros, trímeros y oligómeros superiores, portan diferentes cantidades de grupos fosfato e hidrato de carbono. Entre los grupos hidrato de carbono se encuentran grupos galactosa, galactosamina y ácido N-acetil-neuramínico. El término "caseína", tal como se utiliza en esta memoria, comprende también sales de las proteínas caseína con bases entre las que se prefieren sales con metales alcalinos (sodio, potasio) y metales alcalinotérreos (calcio) y de amonio. La kappa-caseína, que normalmente se presenta en forma de un trímero u oligómero superior, en donde las cadenas peptídicas están conectadas a través de puentes de azufre, es el único componente de la caseína principal que es soluble en las concentraciones de leche que aparecen de forma natural en presencia de iones calcio. Además, la kappa-caseína puede proteger a las fracciones de caseína que son precipitables con iones calcio frente a una precipitación de este tipo al formar complejos. Las gamma-caseínas son productos de degradación de las beta-caseínas por enzimas proteolíticas de la leche, mientras que las lambda-caseínas contienen principalmente fragmentos de  $\alpha$ -caseínas que se pueden obtener in vitro por incubación de alfa-caseína con plasmina (una proteinasa alcalina de la vaca). Por lo tanto, el término "caseína", tal como se utiliza en relación con la presente invención, comprende también fragmentos o hidrolizados de caseínas que se obtienen por hidrólisis, incluida la escisión enzimática de caseínas de cadena larga completa. Mientras que la escisión enzimática es una escisión selectiva del lugar que proporciona generalmente fragmentos bien definidos, la hidrólisis en condiciones ácidas o alcalinas proporciona mezclas menos bien definidas de cadenas peptídicas más cortas. El grado de hidrólisis (GH) puede variar considerablemente y puede tener cualquier valor entre 1 y 70%, preferiblemente entre 1 y 10, 15, 20, 25, 30 ó 35%, lo que significa que el número respectivo de enlaces péptido en % es quebrado. Bajo condiciones de degradación hidrolítica cuidadosamente controladas, se obtienen mezclas de péptidos con una distribución del peso molecular típica.

40 Un ejemplo de un hidrolizado de caseína que es muy nutritivo y también adecuado como una fuente de proteínas en fórmulas infantiles con un contenido reducido en alérgeno es PEPTIGEN® IF-2050 de Arla Foods Ingredients, Viby, Dinamarca, que consiste en péptidos de cadena corta con un bajo perfil de amargor, obtenido mediante una degradación enzimática cuidadosamente controlada. Su GH es 22-27 y su PM medio (Dalton) es 850-1200 (menor que 1500: 81, 7%; 1500-3500: 17,2%; 3500-6000: 1,1% (p/p)).

45 En una realización preferida de la presente invención, se utilizan caseína que se presenta de forma natural e hidrolizados de la misma.

50 Muchos tipos diferentes de caseína mencionados anteriormente, útiles en la práctica de la presente invención, están comercialmente disponibles y se conocen bajo diferentes marcas registradas. Por otra parte, de acuerdo con métodos clásicos bien conocidos, la caseína se puede obtener mediante precipitación de leche desnatada con ácidos (p. ej. HCl, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, ácido láctico) a temperaturas en el intervalo de 35-50°C y a un pH de 4,2-4,6 mediante fermentación con microorganismos productores de ácido láctico o mediante la adición de proteinasas (pepsina o renina), aislamiento del precipitado, lavado y secado. Sales de metales alcalinos y alcalinotérreos de caseínas (a saber caseinatos) se pueden obtener neutralizando disoluciones de caseína de carácter ácido a pH 6,7 con disoluciones de hidróxido de sodio, potasio o calcio. Un ejemplo de un caseinato de potasio comercialmente disponible en MIPRODAN® 55, de Arla Foods Ingredients, Viby, Dinamarca, que se fabrica a partir de leche desnatada pasteurizada fresca mediante precipitación con ácido de la caseína, neutralización directa y secado por atomización.

55 La relación ponderal de resveratrol:caseína en los complejos de caseína de la presente invención se encuentra

en el intervalo de aproximadamente 0,1:99,9-50:50, preferiblemente en el intervalo de 1:98-1:2, y puede ser, p. ej. 3:97, 5:95 ó 15:85.

5 Un aspecto adicional de la presente invención es un procedimiento para la fabricación de los complejos de caseína definidos anteriormente en forma de disoluciones acuosas, preferiblemente en forma concentrada, o sustancias secas. Este procedimiento se puede llevar a cabo de una manera conocida per se y comprende mezclar una disolución o dispersión de resveratrol, preferiblemente en un disolvente orgánico miscible con agua, en el que el resveratrol tiene una solubilidad significativa, o en una mezcla de un disolvente de este tipo con agua, con una disolución acuosa de una caseína en la relación ponderal deseada en un equipo de mezclado adecuado, si se desea bajo calentamiento y, si se desea, transformando la disolución resultante en una disolución acuosa concentrada o polvo seco. Alternativamente, el resveratrol puede ser añadido simplemente a una composición con contenido en caseína, con lo que se forma un complejo de resveratrol-caseína. La expresión "disolución concentrada" significa una disolución en la que la concentración de resveratrol es mayor que en una forma no complejada. Disolventes orgánicos miscibles con agua son disolventes polares tales como alcoholes mono-, di- o poli-valentes (p. ej. metanol, etanol, propanol, iso-propanol, un butanol, etc., o glicerol), cetonas tales como acetona o incluso dimetilformamida. Se prefieren disolventes orgánicos fisiológicamente aceptables y disolventes aprobados para uso en la tecnología de alimentos y de piensos. Preferiblemente, la disolución de resveratrol se añade lentamente a la disolución acuosa de caseína bajo agitación.

20 El disolvente orgánico se puede separar, y la disolución acuosa restante se puede concentrar por métodos que son conocidos por una persona experta en la técnica, p. ej., mediante vaporización o evaporación y luego, si se desea, el concentrado se transforma en un polvo seco por métodos de secado bien conocidos, p. ej. convección, contacto, liofilización o secado por atomización en equipos adecuados, si se desea bajo fragmentación concomitante o subsiguiente, p. ej. molienda. En el caso de partículas de polvo discretas de los complejos, el tamaño o diámetro medio de las partículas se encuentra en el intervalo de 5-2000 µm. En dispersiones, en particular en dispersiones acuosas, el tamaño primario de las partículas, es decir no agregadas, se encuentra normalmente en el intervalo de 50-3000 nm, preferiblemente por debajo de 250 nm, p. ej. en el intervalo de 100-250 nm o de 50-250 nm. Para la aplicación en comprimidos, un tamaño preferido de partícula es 100-850 µm.

25 En un aspecto adicional, la presente invención se refiere a un método para aumentar la solubilidad/dispersabilidad y estabilidad de resveratrol en un entorno acuoso añadiéndolo en forma de un complejo de caseína al entorno o en forma de un compuesto no complejado a un entorno con contenido en caseína, o añadiendo caseína a un entorno con contenido en resveratrol. Un entorno acuoso puede ser disoluciones acuosas o composiciones con contenido en agua. Entornos con contenido en caseína comprenden productos que contienen o que están enriquecidos con caseína.

30 Los complejos de caseína de resveratrol de la presente invención se pueden utilizar de las mismas maneras y en las mismas formas de aplicación y en formulaciones que ya son conocidas para resveratrol como un agente con diversas actividades beneficiosas descritas en la bibliografía, incluida su capacidad para mejorar el estado físico y/o mental de los mamíferos, particularmente seres humanos.

35 Por consiguiente, la presente invención también se refiere a composiciones que comprenden complejos de caseína de resveratrol en forma sólida y dispersada/disuelta, p. ej. en forma de polvos libremente fluyentes o dispersiones/disoluciones, preferiblemente dispersiones/disoluciones acuosas, para uso como agentes activos en preparados farmacéuticos y cosméticos y en suplementos para alimentos y piensos incluidas bebidas, así como a preparaciones farmacéuticas y cosméticas, suplementos de alimentos y de piensos y los propios alimentos y piensos que contienen estos complejos en calidad de componentes activos sencillos, o en combinación con uno o más de otros componentes fisiológicamente activos.

40 En un aspecto preferido, la presente invención se refiere a bebidas que contienen los complejos de resveratrol y caseína de la presente invención en forma de disoluciones estables, es decir sin formación de anillos ni precipitación, preferiblemente en forma de disoluciones ópticamente transparentes, en cantidades nutritivamente suplementarias. Cantidades de este tipo se encuentran en el intervalo de 20 mg/l-2000 mg/l.

45 El término "bebidas" comprende todos los tipos de agua bebible tales como aguas minerales naturales o artificiales, bebidas no alcohólicas, bebidas minerales, bebidas deportivas, jugos de fruta, zumos de frutas, néctares de frutas, en formas concentradas así como en formas diluidas. Las bebidas pueden contener dióxido de carbono, frutas y sabores de frutas, agua así como vitaminas solubles en grasas y minerales nutritivamente importantes y elementos traza, todos ellos artificiales o de origen natural. A modo de ejemplo, la fruta en los jugos de fruta y sabores de fruta incluyen lo siguiente: uva, pera, fruta de la pasión, piña, banana, albaricoque, naranja, limón, lima, pomelo, manzana, cola, arándano, tomate, mango, papaya, mandarina, nectarina, ciruela, cereza, frambuesa y zanahoria. Son posibles cualesquiera combinaciones de estos frutos y sabores, incluidos chocolate y otros sabores no frutales. También está comprendido por el término "bebida" cualquier tipo de leche, y puede estar reforzado con los complejos de resveratrol de la presente invención.

5 La fabricación de las composiciones nutraceuticas de la presente invención, a saber las formulaciones galénicas y cosméticas de los suplementos para alimentos, piensos y bebidas sobre la base de resveratrol en calidad de componente activo se puede llevar a cabo de acuerdo con métodos conocidos en la técnica, utilizando los receptores fisiológicamente aceptables. Las composiciones nutraceuticas de la presente invención contienen resveratrol en una cantidad suficiente para administrar a un ser humano adulto (peso corporal aproximadamente 70 kg) una dosificación de aproximadamente 0,5 mg/día a aproximadamente 2000 mg/día, de preferencia de aproximadamente 5 mg/día a aproximadamente 500 mg/día.

10 Así, si la composición nutraceutica es un alimento o bebida, la cantidad del resveratrol contenida en el mismo está adecuadamente en el intervalo de 0,2 mg a aproximadamente 500 mg por ración. Si la composición nutraceutica es una formulación farmacéutica, dicha formulación puede contener aproximadamente 0,5 mg a aproximadamente 500 mg por unidad de dosificación sólida, p. ej. por cápsula o comprimido, o de aproximadamente 0,5 mg por dosis diaria a aproximadamente 2000 mg por dosis diaria de una formulación líquida.

Los siguientes ejemplos ilustran la presente invención con mayor detalle:

#### Ejemplo 1

15 Disolución A: 27,1 g de caseinato potásico con un contenido de humedad del 7,54% (Miprodan® 55, Arla Foods, DK) se disolvieron en 181,2 g de agua desionizada.

Disolución B: 1,5 g de resveratrol (DSM Nutritional Products, CH) se disolvieron en 70 g de etanol a 40°C, y a la disolución se añadieron 35 g de agua desionizada.

20 208,3 g de disolución A se añadieron lentamente a 106,5 g de disolución B con agitación a 40°C. Después, se separó el etanol mediante evaporación rotatoria. La mezcla acuosa restante (aproximadamente 208 g) se secó con un secadora por atomización (Niro Mobile Minor 2000, Copenhagen, DK) a una temperatura de entrada de 209°C y una temperatura de salida de 105°C, para proporcionar un polvo con un contenido de aproximadamente 5,1% de resveratrol basado en análisis UV. 1,035 g de este polvo se dispersaron en agua desionizada para constituir una dispersión de 500 ml con un tamaño medio de partícula de 127-130 nm, una turbidez de 44,8 NTU y una concentración de resveratrol de 25 119 ppm al cabo de 3 días.

#### Ejemplo 2

Disolución A: 34,4 g de caseinato potásico con un contenido de humedad del 6,44% (Miprodan® 55, Arla Foods, DK) se disolvieron en 235,6 g de agua desionizada.

30 Disolución B: 3,68 g de resveratrol (DSM Nutritional Products, CH) se disolvieron en 156 g de etanol a la temperatura ambiente.

35 159,7 g de disolución B se añadieron a 270 g de disolución A con agitación. La mezcla se dispuso en un matraz de fondo redondo con evaporador rotatorio y se hizo rotar en un baño de agua a 55°C durante 1 hora sin vacío. Después, el etanol en la mezcla se separó en vacío mediante evaporación rotatoria. La mezcla acuosa restante (aproximadamente 250 g) se secó con una secadora por atomización (Niro Mobile Minor 2000, Copenhagen, DK) a una temperatura de entrada de 199°C y una temperatura de salida de aproximadamente 92°C, para proporcionar un polvo con un contenido de aproximadamente 10% de resveratrol. 0,21 g de este polvo se dispersaron en 200 ml de agua. Después de la pasteurización y del almacenamiento en la oscuridad a la temperatura ambiente durante 4 semanas, la muestra se analizó siendo la concentración de resveratrol de 89,2 ppm.

#### Ejemplo 3

40 Disolución A: 34,4 g de caseinato potásico con un contenido de humedad del 6,44% (Miprodan® 55, Arla Foods, DK) se disolvieron en 235,6 g de agua desionizada.

Disolución B: 3,68 g de resveratrol (DSM Nutritional Products, CH) se disolvieron en 156 g de etanol a la temperatura ambiente.

45 159,7 g de disolución B se añadieron lentamente a 270 g de disolución A con agitación. La mezcla se dispuso en un matraz de fondo redondo con evaporador rotatorio y se hizo rotar en un baño de agua a 50°C durante 1 hora sin vacío. El etanol y la mayoría del agua de la mezcla se separaron luego en vacío mediante evaporación rotatoria para dar un material pegajoso que contenía aproximadamente 6,05% de resveratrol. 1,050 g de este material se dispersaron en agua desionizada a 50°C para constituir una dispersión de 1000 ml. Después del enfriamiento hasta la temperatura ambiente, el pH se ajustó a 6,5 con HCl 0,1 N. Después, la mezcla se embotelló en botellas de vidrio y se pasteurizó a 50 70°C durante 20 minutos. Las muestras se almacenaron en la oscuridad a la temperatura ambiente durante 6 semanas. Se determinó que el tamaño de las partículas, la turbidez y la concentración de resveratrol (mediante UV) eran de 215 nm, 25,6 NTU y 63,3 ppm, respectivamente.

Ejemplo 4

Disolución A: 15,3 g de caseinato potásico con un contenido de humedad del 6,44% (Miprodan® 55, Arla Foods, Copenhagen, DK) se disolvieron en 236,7 g de agua desionizada.

5 Disolución B: 3,68 g de resveratrol (DSM Nutritional Products, CH) se disolvieron en 156 g de etanol a la temperatura ambiente.

10 159,7 g de disolución B se añadieron lentamente a 252 g de disolución A con agitación. La mezcla se dispuso en un matraz de fondo redondo con evaporador rotatorio y se hizo rotar en un baño de agua a 50°C durante 1 hora sin vacío. Después, el etanol y el agua en la mezcla se separaron en vacío mediante evaporación rotatoria a 50°C. El residuo se secó adicionalmente en una caja de humedad al 10% y luego en una estufa de vacío hasta sequedad y luego se molió para formar un polvo. 1,050 g del polvo se dispersaron en 200 ml de agua desionizada, y luego la mezcla se pasteurizó a 70°C durante 20 minutos. La dispersión se dispuso en botellas de vidrio y se almacenó en la oscuridad. Después de un día se determinó que el tamaño de las partículas, la turbidez y la concentración de resveratrol (mediante UV) eran de 259 nm, 11,4 NTU y 100,6 ppm, respectivamente.

Ejemplo 5

15 Disolución A: 11,55 g de caseinato potásico con un contenido de humedad del 6,44% (Miprodan® 55, Arla Foods, Copenhagen, DK) se disolvieron en 278 g de agua desionizada.

Disolución B: 3,68 g de resveratrol (DSM Nutritional Products, CH) se disolvieron en 156 g de etanol a la temperatura ambiente.

20 159,7 g de disolución B se añadieron lentamente a 289,6 g de disolución A con agitación. La mezcla resultante se dispuso en un matraz de fondo redondo con evaporador rotatorio y se hizo rotar en un baño de agua a 50°C durante 1 hora sin vacío. Después, el etanol y el agua de la mezcla se separaron de la mezcla en vacío (15 mbar) mediante evaporación rotatoria a 50°C. El residuo se secó adicionalmente a 40°C en una estufa de vacío hasta sequedad y se molió hasta formar un polvo.

25 0,263 g del polvo se dispersaron en 1000 ml de agua desionizada a 70°C. Una muestra de 200 ml se embotelló en una botella de vidrio y se calentó a 70°C durante 20 minutos (no dispersada por completo) y de nuevo a 90°C durante 20 minutos hasta la dispersión completa. Se determinó que el tamaño de las partículas, la turbidez y la concentración de resveratrol (mediante UV) eran de 244,9 nm, 13,8 NTU y 106,5 ppm, respectivamente.

Ejemplo 6

30 Disolución A: 30,2 g de caseinato potásico con un contenido de humedad del 6,44% (Miprodan® 55, Arla Foods, Copenhagen, DK) se disolvieron en 250 g de agua desionizada.

35 159,7 g de disolución A se mezclaron con 1,84 g de resveratrol. La mezcla se calentó en un matraz de fondo redondo a 75°C en un baño de agua durante 1,5 horas y el material se transfirió a un vaso de filtración en caliente y se calentó con agitación magnética en un baño de agua a 90°-95°C durante 2 horas. La pasta se secó en una estufa de vacío a 40°C durante una noche. El polvo contenía aproximadamente 4,82% de resveratrol. 2,178 g del mismo se dispersaron en 1000 ml de agua desionizada, se ajustaron a pH 6,5 y luego se pasteurizaron a 75°C durante 20 minutos. El tamaño de las partículas era de 213 nm, la turbidez de 33,3 NTU y la concentración de resveratrol de 107 ppm.

Ejemplo 7

40 Disolución A: 60,6 g de hidrolizado de caseína (Peptigen® IF-2050, Arla Foods, DK) con un contenido de humedad del 6,71% se disolvieron en 235 g de agua desionizada.

Disolución B: 3,68 g de resveratrol (DSM Nutritional Products, CH) se disolvieron en 156 g de etanol.

159,68 g de disolución B se añadieron lentamente a 295,6 g de disolución A con agitación. La mezcla se transfirió a un matraz de fondo redondo y se hizo rotar en un baño de agua a 50°C durante 1 hora en un evaporador rotatorio sin vacío, y luego se secó en vacío. El material seco se molió para formar un polvo.

45 El polvo (20 g) se dispersó en agua desionizada (180 g, pH 6,8) y se agitó durante 15 minutos. 32 g de la dispersión se añadieron a 2268 g de agua desionizada y el pH de 6,2 se ajustó a 6,8 con disolución diluida de bicarbonato de sodio. La dispersión se calentó en un baño de agua a 95°C durante 20 minutos. Después de enfriar hasta la temperatura ambiente, se obtuvo una dispersión de resveratrol transparente que contenía 70 ppm de resveratrol. Después de almacenamiento a 25°C durante 1 semana, la disolución permanecía siendo transparente y seguía  
50 conteniendo 70 ppm de resveratrol.

Ejemplo 8

Disolución A: 60,4 g de caseinato potásico con un contenido de humedad del 6,44% (Miprodan® 55, Arla Foods, Copenhagen, DK) se disolvieron en 500 g de agua desionizada.

Disolución B: 3,68 g de resveratrol (DSM Nutritional Products, CH) se disolvieron en 156 g de etanol.

5 159,68 g de disolución B se añadieron lentamente a disolución A (560,4 g) con agitación. La mezcla se transfirió a un matraz de fondo redondo y se calentó en un baño de agua a 50°C durante 1 hora con rotación en un evaporador rotatorio sin vacío, y luego se secó en vacío. El material seco se secó adicionalmente en una estufa de vacío a 40°C durante una noche. Los materiales secados en estufa se molieron para formar un polvo.

10 El polvo (2,5 g) se dispersó en agua desionizada (47,5 g) con agitación. La dispersión se centrifugó a 3000 rpm durante 5 minutos (centrífuga Sigma 6-10, Sigma Laborzentrifugen GmbH, Alemania) para separar el material no dispersable. El material sobrenadante se liofilizó para proporcionar 1,7 g de polvo. El polvo (1 g) se suspendió en agua desionizada (9 g) para dar una dispersión homogénea al 10%. Una muestra de la dispersión se dispuso en un tubo de ensayo y se almacenó a la temperatura ambiente durante 3 horas y luego a 5°C durante 1 día. Se tomó una pequeña muestra de la parte superior del tubo de ensayo y luego se recogió una muestra después de la mezcla. El contenido en resveratrol de la muestra tomada de la parte superior del tubo de ensayo y la muestra tomada después de la mezcla contenían 0,422% y 0,425% de resveratrol, respectivamente. Los resultados indicaban la estabilidad de la dispersión. La dispersión muy concentrada puede utilizarse convenientemente para diversas aplicaciones en productos farmacéuticos y cosméticos, alimentos y piensos, especialmente en bebidas.

20 Este ejemplo demuestra la ventaja del complejo de resveratrol frente al resveratrol no complejado (resveratrol puro). Una dispersión de más de 0,005% (probablemente mucho menor utilizando condiciones de dispersión similares) de resveratrol no complejado daría como resultado una precipitación de resveratrol.

Ejemplo 9

El complejo de resveratrol-caseinato utilizado era el material secado en estufa descrito en el Ejemplo 8 (el material no dispersable no se separó mediante centrifugación). Resveratrol cristalino se incluyó para fines comparativos.

25 Resveratrol complejado y cristalino se dispersó en agua desionizada de pH 6,8 ó 3,0 para dar una concentración final de la dispersión diana de 60 y 80 ppm. El pH deseado se consiguió mediante el ajuste del pH utilizando HCl diluido o NaHCO<sub>3</sub>. Las muestras se calentaron en un baño de agua hasta 80°C y luego se mantuvieron a 80°C durante 1 minuto. Las muestras se almacenaron en la oscuridad a 25°C y 5°C. Durante el almacenamiento, recristalizó el resveratrol y precipitó en algunas muestras. La concentración de resveratrol en el material sobrenadante se determinó mediante un método de UV, y los resultados se muestran a continuación.

30

	pH	Temp., °C	Resveratrol en el sobrenadante, ppm		
			Inicial	1 semana	2,4 semanas
Resveratrol	6,8	25	60	45 (75%)	39 (65%)
Resveratrol	6,8	5	60	23 (38%)	17 (28%)
Resveratrol	3,0	25	58	43 (74%)	39 (67%)
Resveratrol	3,0	5	58	28 (48%)	19 (33%)
Resveratrol-caseinato	6,8	25	60	61 (100%)	58 (97%)
Resveratrol-caseinato	6,8	5	60	59 (98%)	58 (98%)
Resveratrol-caseinato	3,0	25	59	61 (100%)	59 (100%)
Resveratrol-caseinato	3,0	5	59	60 (100%)	57 (97%)
Resveratrol	6,8	25	79	45 (57%)	43 (54%)
Resveratrol	6,8	5	79	24 (30%)	16 (20%)
Resveratrol	3,0	25	80	47 (59%)	38 (48%)
Resveratrol	3,0	5	80	28 (35%)	16 (20%)

Resveratrol-caseinato	6,8	25	80	82 (100%)	79 (99%)
Resveratrol-caseinato	6,8	5	80	82 (100%)	81 (100%)
Resveratrol-caseinato	3,0	25	79	78 (99%)	77 (98%)
Resveratrol-caseinato	3,0	5	79	76 (96%)	42 (53%)

**Ejemplo 10****Preparación de una bebida con 10% de jugo***a) Complejo de resveratrol en disolución de partida al 10%*

5           Añadir 10 g del complejo de resveratrol (6% de resveratrol) a 90 g de agua desionizada y agitar.

*b) Mezcladura del jugo*

10           Añadir 328,4 g de agua desionizada a 483,3 g de concentrado de jugo de naranja (65° Brix) y 173,3 g de concentrado de jugo de limón (45° Brix). Agitar suavemente y dejar que los concentrados de jugo se hidraten. Añadir 5 g de sabor de naranja oleosa y 10 g de beta-caroteno (CWS al 10% de DSM) en forma de una disolución de partida al 10% y pre-emulsionar en un homogeneizador con rotor-estator. Homogeneizar la mezcla de jugo en un homogeneizador a alta presión.

*c) Preparación de la bebida*

15           0,2 g de benzoato de sodio se disuelven en 100 ml de agua desionizada. Después de ello, se añaden, uno tras otro y con agitación, 156,2 g de jarabe de azúcar (64° Brix), 0,4 g de polvo fino de ácido ascórbico, 5 g de ácido cítrico (disolución al 50% p/p), 10 g de disolución de pectina (al 2% p/p), 30 g de mezcla de jugo y 13,3 g de disolución de partida de complejo de resveratrol al 10%. El jarabe se rellena entonces hasta 1 litro de bebida con agua del grifo o carbonatada.

**Ejemplo 11****Preparación de una bebida con 10% de jugo***a) Complejo de resveratrol en disolución de partida al 10%*

20           Añadir 50 g del complejo de resveratrol (6% de resveratrol) a 450 g de agua desionizada y agitar.

*b) Mezcladura del jugo*

25           Añadir 328,4 g de agua desionizada a 483,3 g de concentrado de jugo de naranja (65° Brix) y 173,3 g de concentrado de zumo de limón (45° Brix). Agitar suavemente y dejar que los concentrados de jugo se hidraten. Añadir 5 g de sabor de naranja oleosa y 10 g de beta-caroteno (CWS al 10% de DSM) en forma de una disolución de partida al 10% y pre-emulsionar en un homogeneizador con rotor-estator. Añadir 444.4 g de disolución de partida del complejo de resveratrol al 10%. Homogeneizar la mezcla de jugo en un homogeneizador a alta presión.

*c) Preparación de la bebida*

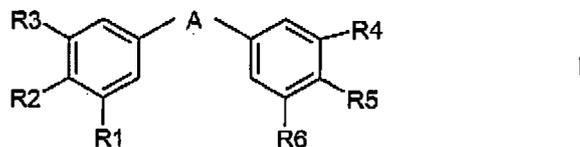
30           0,2 g de benzoato de sodio se disuelven en 100 ml de agua desionizada. Después de ello, se añaden, uno tras otro y con agitación, 156,2 g de jarabe de azúcar (64° Brix), 0,4 g de polvo fino de ácido ascórbico, 5 g de ácido cítrico (disolución al 50% p/p), 10 g de disolución de pectina (al 2% p/p), 30 g de mezcla de jugo. El jarabe se rellena entonces hasta 1 litro de bebida con agua del grifo o carbonatada.

**Ejemplo 12****Preparación de una bebida de agua pura**

35           Disolver 0,2 g de benzoato de sodio en 100 ml de agua desionizada. Añadir 0,4 g de ácido ascórbico, 7,2 g de azúcar, 2 g de ácido cítrico (disolución acuosa al 50% p/p), 0,1 g de sabor de ginger ale (refresco de jengibre) soluble en agua y 0,2 g de sabor de limón soluble en agua y agitar. Añadir 13,3 g de disolución de partida de resveratrol al 10% (véase el Ejemplo 10a) y agitar. Completar hasta 1 litro de bebida con agua del grifo o carbonatada o mineral.

## REIVINDICACIONES

1.- Un complejo que comprende (i) un compuesto abarcado por la fórmula general



5 en donde A significa un enlace sencillo o doble de carbono-carbono, pudiendo estar este último en posición trans o cis, y R1, R2, R3, R4, R5 y R6, independientemente uno de otro, significan hidrógeno, grupos hidroxilo, hidroxilo eterificado o hidroxilo esterificado y (ii) una caseína.

2.- Un complejo según la reivindicación 1, en el que el compuesto de fórmula (I) es resveratrol.

3.- Un complejo según la reivindicación 1, en el que el compuesto de fórmula (I) es dihidroresveratrol.

10 4.- Un complejo de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que la caseína es una sal de metales alcalinos, alcalinotérreos o de amonio de caseína o un hidrolizado de caseína.

5.- Un complejo de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en el que la relación ponderal de resveratrol:componente de caseína es de 0,1:99,9 a 50:50.

6.- Un complejo de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en forma de partículas de polvo discretas con un diámetro medio de partícula de 5 a 2000  $\mu\text{m}$ .

15 7.- Un complejo de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en forma de un suplemento para alimentos, piensos o en forma de un componente de preparados farmacéuticos o cosméticos.

8.- Un complejo de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en forma de una dispersión.

9.- El complejo de la reivindicación 8, en el que el tamaño de partículas primario se encuentra en el intervalo de 50-3000 nm.

20 10.- Una composición que comprende un complejo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-9.

11.- Un alimento o pienso que contiene un complejo según una cualquiera de las reivindicaciones 1-6.

12.- Una bebida que contiene un complejo según una cualquiera de las reivindicaciones 1-6 y 8-9.

13.- Una preparación farmacéutica o cosmética que contiene un complejo según una cualquiera de las reivindicaciones 1-6 y un soporte fisiológicamente aceptable.

25 14.- Un procedimiento para la fabricación de un complejo o composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, que comprende

30 (a) mezclar (i) resveratrol o una disolución o dispersión de resveratrol, preferiblemente en un disolvente orgánico miscible con agua, en que resveratrol tiene una solubilidad significativa o en una mezcla de un disolvente de este tipo con agua, con (ii) una disolución acuosa de una caseína y, si se desea, transformar la disolución resultante en una disolución concentrada o en un polvo seco, o

(b) añadir simplemente resveratrol a una composición con contenido en caseína.

15.- Un método para aumentar la solubilidad/dispersabilidad y estabilidad de resveratrol en un entorno acuoso añadiéndolo en forma de un complejo de caseína al entorno o en forma de un compuesto no complejado a un entorno con contenido en caseína o añadir caseína a un entorno con contenido en resveratrol.

35 16.- El uso de un complejo de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en forma de un suplemento para alimentos o piensos.

17.- El uso de un complejo de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en preparados cosméticos.

18.- El uso de un complejo de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, para la fabricación de preparados de uso farmacéutico.

19.- El uso de un complejo de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en la fabricación de preparados para mejorar el estado físico o mental de un mamífero.